
Ишемия ГОЛОВНОГО МОЗГА

Самое полное издание



**Евгений Иванович
Гусев**

академик Российской АМН, профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой геронтологии и нейрохирургии, Российского государственного медицинского университета.

Председатель Всероссийского общества неврологов, президент Национальной ассоциации по борьбе с инсультом, руководитель АБИ и Российской ассоциации (США) телекорреспондент Третьяковского неврологического общества.



**Марьяна Игоревна
Скворцова**

президент, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом лабораторной и функциональной диагностики Российского государственного медицинского университета.

Главный научный секретарь Всероссийского общества неврологов, вице-президент Национальной ассоциации по борьбе с инсультом, научный советник управления АБИ исполнительской ассоциации (США).

Е.И.Гусев,
В.И.Скворцова

Ишемия головного мозга

Содержание



МОСКВА
"МЕДИЦИНА"
2001

Гусев Е.Н., Скворцова В.И.
 Г 96 Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2001. — 326 с.: ил. — ISBN 5-225-04642-8

В монографии обобщен многолетний опыт и накопленные данные литературы по клиническому и экспериментальному изучению процессов церебральной ишемии. Представлены современная концепция повреждающего действия ишемии на ткань мозга, клеточная, биохимические и молекулярные механизмы развития церебрального инфаркта. Рекомендованы основные стратегии профилактики ишемической защиты мозга, направления терапевтической и профилактической нейропротекции.

Для врачей — неврологов, кардиологов, терапевтов, нейрохирургов, кардиохирургов, а также научных работников.

Gusev E.N., Skvortsova V.
 Brain ischaemia. Moscow, Meditsina Publishers, 2001
 ISBN 5-225-04642-8

This book is devoted to the problem of cerebral ischaemia. The author presents the modern conception of cerebral ischaemic damage summarizing the results of own clinical and experimental investigations, experience accumulated for decades as well as the achievements of native and foreign neurological researches. Cellular, biochemical and molecular mechanisms of brain infarction forming are showed. Basic strategies of anti-ischaemic neuroprotection and therapeutic prevention of brain damage are discussed in the book.

The monograph is intended for neurologists, cardiologists, therapists, neurosurgeons, cardio surgeons as well as for scientific researchers.

ББК 54.10

ISBN 5-225-04642-8

© Е.Н.Гусев,
 В.И.Скворцова, 2001

Все права авторов защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	12
Часть первая	
Механизмы повреждающего действия ишемии головного мозга	
Глава 1. Гемодинамические события, связанные с острой фокальной ишемией мозга и реперфузией; зона «ишемической полутени»	17
Глава 2. Клеточные реакции, связанные с острой фокальной ишемией мозга	27
Глава 3. Изменения энергетического метаболизма, вызванные церебральной ишемией	34
Глава 4. Глутамат-кальциевый каскад	40
4.1. Этап индукции: нарушения ионного транспорта, глутаматная «эксайтотоксичность»	40
4.1.1. Содержание нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости в норме и при ишемическом инсульте	44
4.1.2. Регуляция концентрации возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот в синаптической щели	51
4.1.3. Учет глутаматных рецепторов в механизмах церебральной ишемии	54
4.2. Этап амплификации: внутриклеточное накопление ионов кальция, «распространяющаяся» локальная эксайтотоксичность, «распространяющаяся депрессия», цинк-опосредованная «эксайтотоксичность»	60
4.3. Этап экспрессии: активация клеточных ферментов, окислительный стресс и ишемический синтез оксида азота, накопление низкомолекулярных цитотоксичных соединений	64
4.3.1. Содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов: супероксиддисмутазы, cGMP и N-ацетилнейраминной кислоты в цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом	69
Глава 5. Метаболический ацидоз и ишемическое повреждение	90
Глава 6. Отдаленные последствия острой фокальной ишемии мозга; «доформирование» очага инфаркта	94
Глава 7. Реакция генома на острую церебральную ишемию и последующие молекулярные события	96
Глава 8. Активация микроглии; высвобождение цитокинов; локальная воспалительная реакция	105
8.1. Динамика содержания про- и противовоспалительных цитокинов, С-реактивного белка в цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом	112
8.2. Микроциркуляторно-клеточный каскад	121

Глава 9. Участие аутоиммунных реакций в формировании трофической дисфункции и повреждении ткани мозга при церебральной ишемии	130
9.1. Содержание фактора роста нервов и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом	132
9.2. Содержание нейроспектифического белка S100β и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом	141
9.3. Содержание основного белка миелина и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом	147
9.4. Содержание аутоантител к фактору роста нервов, белку S100β и основному белку миелина в сыворотке крови больных с хронической ишемической болезнью мозга	151
Глава 10. Программированная смерть клетки; апоптоз	157
Глава 11. Реакция стресс-реализующей эндокринной системы на острую церебральную ишемию	167
Глава 12. Молекулярные механизмы постишемических репаративных процессов	178

Часть вторая

Нейропротективная терапия при ишемии головного мозга

Глава 13. Современные подходы к терапии острой и фокальной ишемии головного мозга, основные стратегии нейропротекции	187
Глава 14. Первичная нейропротекция	195
14.1. Антагонисты потенциал-зависимых кальциевых каналов	196
14.2. Антагонисты глутаматных рецепторов	199
14.3. Ингибиторы синтеза и транскрипционного высвобождения глутамата	203
14.4. Агонисты ГАМК	204
14.5. Глицин	206
14.5.1. Рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование безопасности и эффективности глицина при остром ишемическом инсульте; изучение механизмов его нейропротективного действия	208
14.5.2. Влияние глицина на функциональное состояние мозга у больных с ишемическим инсультом	221
14.5.3. Особенности действия глицина в остром периоде вертебрально-базиллярного ишемического инсульта	228
Глава 15. Вторичная нейропротекция	241
15.1. Антиоксиданты	242
15.2. Антитела к молекулам межклеточной адгезии	245
15.3. Блокаторы провоспалительных цитокинов; активаторы противовоспалительных факторов	246
15.4. Статины, эстрогены	247
15.5. Нейротрофические факторы	247
15.6. Нейропептиды	248
15.6.1. Семакс	249
15.6.1.1. Изучение эффективности семакса при экспериментальной ишемии мозга	251

15.6.1.2. Рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование безопасности и эффективности семакса при каротидном ишемическом инсульте	254
15.6.1.3. Изучение механизмов нейропротективного действия семакса при острой фокальной ишемии головного мозга	260
15.6.1.4. Влияние семакса на функциональное состояние мозга больных с каротидным ишемическим инсультом	271
15.6.1.5. Особенности действия семакса в остром периоде вертебрально-базиллярного ишемического инсульта	274
15.6.2. Производные вазоактивного интестинального полипептида	276
15.6.3. Церебротазин	277
15.6.3.1. Мониторное клинико-нейрофизиологическое изучение дозозависимой эффективности церебротазина при ишемическом инсульте	279
15.7. Ганглиозиды	287
15.7.1. Клинико-нейрофизиологическое изучение эффективности ганглиозидов при ишемическом инсульте	290
15.8. Предотвращение апоптоза	294
Глава 16. Терапия, направленная на улучшение регенеративных процессов	302
16.1. Пирацетам	302
16.1.1. Мониторное клинико-нейрофизиологическое изучение дозозависимой эффективности пирацетама (ноотропила) при ишемическом инсульте	304
16.2. Пикамилон	312
16.3. Пярядитол	313
16.4. Цитиколин	314
16.5. Глиatilкин	315
16.6. Аплегин	315
Глава 17. Стратегия и перспективы нейропротективной терапии при ишемии головного мозга	320
Заключение	326

CONTENTS

Introduction	12

Part first

Mechanisms of Ischaemic Brain Damage

1. Hemodynamic Events Associated with Both Acute Focal Cerebral Ischaemia and Reperfusion. Ischaemic Penumbra	17
2. Cellular Reactions in Response to Acute Focal Cerebral Ischaemia	27
3. Energy Failure Induced by Cerebral Ischaemia	34
4. Glutamate-Calcium Cascade	40
4.1. The Induction Stage: energy-dependent ionic pumps failure, glutamate excitotoxicity	40
4.1.1. CSF Levels of Neurotransmitter Amino Acids in Patients with Acute Ischaemic Stroke	44
4.1.2. Regulation of Extracellular Concentration of Excitatory Amino Acids	51
4.1.3. Glutamate Receptors and Mechanisms of Cerebral Ischaemia	54
4.2. The Amplification Stage: calcium ion overload spreading glutamate excitotoxicity, spreading depression waves, zinc release toxicity	60
4.3. The Expression Stage: calcium-induced activation of intercellular enzymes, oxidative stress & abundant NO production, accumulation of low-molecular-weight cytotoxic substances	64
4.3.1. CSF Levels of Thiolbarbituric Acid Reactive Substances, SOD, cGMP and N-Acetylneuraminic Acid in Patients with Acute Ischaemic Stroke	69
5. Acidosis-Mediated Damage	90
6. Delayed Neuronal Death Following Acute Focal Cerebral Ischaemia	94
7. Gene Expression and Following Molecular Events in Acute Cerebral Ischaemia	96
8. Microglial Activation, Cytokines Production and Local Inflammation in Focal Cerebral Ischaemia	105
8.1. Dynamics of CSF Levels of Pro-Inflammatory and Neuroprotective Cytokines, C-Reactive Protein in Patients with Acute Ischaemic Stroke	112
8.2. Microvascular-Tissue Cascade and Secondary Brain Damage	121
9. Autoimmune Mechanisms of Trophic Dysfunction and Ischaemic Brain Damage	130
9.1. CSF and Blood Serum Levels of NGF and Auto-Antibodies to NGF in Patients with Acute Ischaemic Stroke	132
9.2. CSF and Blood Serum Levels of S100 β and Auto-Antibodies to S100 β in Patients with Acute Ischaemic Stroke	141
9.3. CSF and Blood Serum Levels of Myelin Basic Protein and Auto-Antibodies to Myelin Basic Protein in Patients with Acute Ischaemic Stroke	147

9.4. Blood Serum Levels of Auto-Antibodies to <i>NGF</i> , <i>S100β</i> and Myelin Basic Protein in Patients with Chronic Brain Ischaemia	151
10. Programmed Cell Death. Apoptosis in Focal Cerebral Ischaemia	157
11. Stress-Realizing Reaction in Response to Acute Cerebral Ischaemia	167
12. Molecular Mechanisms of Post-Ischaemic Reparative Processes	178

Part second

Neuroprotection in Cerebral Ischaemia

13. Modern Therapeutic Directions for Acute Focal Cerebral Ischaemia Neuroprotective Strategies	187
14. Primary Neuroprotection	195
14.1. Voltage-Dependent Calcium Channel Antagonists	196
14.2. Antagonists of Glutamate Receptors	199
14.3. Inhibitors of Presynaptic Glutamate Synthesis and Release	203
14.4. GABA Agonists	204
14.5. Glycine	206
14.5.1. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of the Safety and the Efficacy of Glycine in Acute Ischaemic Stroke in the Carotid Artery Territory. Mechanisms of Neuroprotective Effects of Glycine	208
14.5.2. Neurophysiological Monitoring of Glycine Influence on Brain Functional Activity in Patients with Acute Ischaemic Stroke	221
14.5.3. Effects of Glycine in Acute Ischaemic Stroke in the Vertebrobasilar Territory	228
15. Secondary Neuroprotection	241
15.1. Antioxidants	242
15.2. Anti-Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) Antibodies	245
15.3. Pro-Inflammatory Cytokines Inhibitors. Anti-Inflammatory Factors	246
15.4. Statins. Oestrogens	247
15.5. Neurotrophic Factors	247
15.6. Neuropeptides	248
15.6.1. Semax (<i>ACTH¹⁻⁴¹ MEHFPGP</i>)	249
15.6.1.1. The Efficacy of Semax in Experimental Model of Global Cerebral Ischaemia in Rats	251
15.6.1.2. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of the Safety and the Efficacy of Semax in Acute Ischaemic Stroke in the Carotid Artery Territory	254
15.6.1.3. Mechanisms of Neuroprotective Effects of Semax	260
15.6.1.4. Neurophysiological Monitoring of Semax Influence on Brain Functional Activity in Patients with Acute Ischaemic Stroke	271
15.6.1.5. Effects of Semax in Acute Ischaemic Stroke in the Vertebrobasilar Territory	274
15.6.2. Vasoactive Intestinal Polypeptide and Its Derivatives	276
15.6.3. Cerebrolysine	277
15.6.3.1. Clinical-Neurophysiological Monitoring of Dose-Dependent Efficacy of Cerebrolysine in Acute Ischaemic Stroke	279
15.7. Gangliosides	287
15.7.1. Clinical-Neurophysiological Monitoring of Cronassial Efficacy in Acute Ischaemic Stroke	290
15.8. Apoptosis Prevention	294

16. Reparative Therapy	302
16.1. Piracetam (Nootropil)	302
16.1.1. Clinical-Neurophysiological Monitoring of Dose-Dependent Efficacy of Piracetam in Acute Ischaemic Stroke	304
16.2. Picamilon (N-Nicotinoyl-GABA)	312
16.3. Pyriditol (Pyritinol, Encéphabol)	313
16.4. Citicoline Sodium (CDP-choline)	314
16.5. Glatilix (Choline Alfoscerate)	315
16.6. Aplegin (Carnitini Chloridum)	315
17. Strategies and Perspectives of Neuroprotective Therapy Development for Cerebral Ischaemia.	320
Conclusions	326

Copyrighted material

Принятые сокращения

АД	— артериальное давление	AMP	— аденозинмонофосфат
АКТГ	— адренокортикотропный гормон	AMPA	— α-амино-3-гидроксиз-5-метил-4-изоксазол-пропионовая кислота
АЧТВ	— активированное частичное тромбoplastическое время	ADP	— аденозиндифосфат
ВЦАП	— время центрального афферентного проведения	ATP	— аденозинтрифосфат
ВЦЭП	— время центрального эфферентного проведения	BDNF	— фактор роста, выделенный из головного мозга
ГАМК	— γ-аминомасляная кислота	BI	— индекс Бергеля
ГЭБ	— гематоэнцефалический барьер	bFGF	— основной фактор роста фибробластов
ДВС-синдром	— синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания	cGMP	— циклический гуанозинмонофосфат
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота	COX-2	— циклооксигеназа-2
ИЛ	— интерлейкин	CaQ	— кофермент Q
ИЛ-1ra	— антагонист рецептора ИЛ-1	CSF	— колониестимулирующие факторы
ИФН	— интерферон	DAG	— диацилглицерол
KPT	— кортикотропин-рилизинг-гормон	ELISA	— стандартный титр, титрационный иммуноферментный анализ
KCA	— компрессированный спектральный анализ	GAP	— фосфопротенин, связанный с ростом
KCBП	— коротколатентные стволовые вызванные потенциалы на акустическую стимуляцию	GDNF	— фактор роста, выделенный из клеток глии
КТ	— компьютерная томография	GFAP	— глиальный фибриллярный белок
ЛГ	— лютеинизирующий гормон	GTP	— гуанозинтрифосфат
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа	ICAM	— молекула межклеточной адгезии
МРНК	— матричная рибонуклеиновая кислота	ICE	— 18-кДа активирующий фермент инсульт-зависимый фактор роста
МРС	— магнитно-резонансная спектроскопия	IGF	— инсулин-зависимый фактор роста
МРТ	— магнитно-резонансная томография	INOS	— индуцированная NO-синтаза
НАНК	— N-ацетилгистаминамидная кислота	IP ₃	— инозитол-1,4,5-трифосфат
ОЕМ	— основной белок миелина	L-AP ₅	— L-α-амино-4-фосфенолмасляная кислота
ПОЛ	— перекисное окисление липидов	M ₂	— микротубулин-связанный протеин 2
ПЭТ	— позитронно-эмиссионная томография	M ₂ /NADH	— никотинамиддениндинуклеотид
РФЛГ	— рилизинг-фактор лютеина, вызывающего гормона	ADP	— аденозиндифосфат
СОД	— супероксиддисмутаза	NGF	— фактор роста нервов
СРБ	— С-реактивный белок	NGFI-A	— индуктор фактора роста нервов А
СРО	— свободнорадикальное окисление	NMDA	— N-метил-D-аспартат
ССВП	— соматосенсорные вызванные потенциалы 1-го уровня мозга	NOS	— NO-синтаза
cT ₃	— свободный тироксин	NT-3	— нейротрофин-3
cT ₄	— свободный тироксин	OP-1	— остеогенный белок
T ₃	— тироксин	OSS	— шкала Ортогосо
T ₄	— тироксин	rt-PA	— рекомбинантный тканевый активатор плазминогена
ТБКРП	— продукты перекисного окисления липидов, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой	SSS	— Скандинавская шкала
ТРГ	— тиреотропин-рилизинг-гормон	TGF-β ₁	— трансформирующий фактор роста β ₁
ТСК	— топоселективное картирование	VEGF	— эндотелиальный фактор роста
ТТГ	— тиреотропный гормон	VIP	— вазоактивный интестинальный пептид
ФНО	— фактор некроза опухоли		
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон		
ЦМП	— центральный мышечный потенциал		
ЦНС	— центральная нервная система		
ЭНМГ	— электронейромиография		
ЭЭГ	— электроэнцефалография		

Введение

Деятельность головного мозга в целом и все специфические для нервной ткани процессы (проведение нервного импульса, синаптогенез, хранение и переработка поступающей информации, поддержание пространственно-функциональной архитектоники мозга, образование функциональных ансамблей нейронов и др.) находятся в тесной зависимости от уровня энергетического обмена, определяемого прежде всего поступлением с кровотоком кислорода и глюкозы в нервную ткань. Составляя около 2 % общей массы тела человека, головной мозг потребляет 20—25 % поступающего в организм кислорода и до 70 % свободной глюкозы.

По интенсивности дыхания головной мозг занимает второе место среди всех органов. В периоды максимальной активности быстрого развития (у новорожденных) он может использовать до 50 % поступающего в организм кислорода. В ткани головного мозга в результате гликолитических и восстановительных митохондриальных процессов образуется 95 % аденозинтрифосфата (АТФ). В связи с этим недостаточность поступления кислорода в клетки мозга вызывает изменение возбудимости нейронов, нарушение мембран и вторично — нарушение информационной передачи.

Глюкоза — основной субстрат окисления в головном мозге. Преимущественным путем ее метаболизма в нервной ткани является аэробный гликолиз. Примерно 85—90 % глюкозы, потребляемой мозгом, полностью окисляется до углекислого газа и воды. Скорость ее окисления в ткани мозга чрезвычайно мала по сравнению с другими тканями: для ее потребления и только для процессов окисления могут быть использованы за 36 мин. Таким образом, функционирование головного мозга полностью зависит от постоянного поступления глюкозы из крови. При критическом снижении ее концентрации в крови для поддержания окислительных процессов ткань мозга начинает использовать свободную форму гликогена, однако из-за небольших ее размеров полное окисление гликогена мозга заканчивается через 5—7 мин.

Потребность головного мозга в кислороде и глюкозе определяется интенсивностью функциональной деятельности. По мере развития мозга и усложнения решаемых им задач возрастает скорость окисления глюкозы и одновременно увеличивается зависимость активности нейронов от окислительных процессов как источника энергии. В связи с этим очевидна особая значимость проблемы ишемии головного мозга, возникающей вследствие снижения мозгового кровотока и ограничения поступления в нервную ткань кислорода (циркуляторная гипоксия) и глюкозы. Именно ишемия является наиболее распространенной причиной нарушений функций мозга.

Глобальная церебральная ишемия является следствием остановки сердца, грубых нарушений сердечного ритма, выраженной системной артериальной гипотензии. Ее профилактика и лечение занимают важное место среди актуальных проблем современной кардиологии и кардиохирургии. Вместе с тем глобальная ишемия мозга встречается относительно реже, чем *фокальная (локальная) церебральная ишемия*, возникающая при нарушении мозгового кровообращения в отдельном сосудистом бассейне (при ишемическом инсульте или транзиторной ишемической атаке).

Отмеченный в последние годы рост распространенности сосудистых заболеваний обусловил увеличение частоты острых нарушений мозгового кровообращения. Ежегодно в мире переносят инсульт около 6 млн человек, а в России — более 450 000, т.е. каждые 1,5 мин у кого-то из россиян впервые развивается это заболевание. Увеличение распространенности инсульта наблюдается у лиц работоспособного возраста — до 64 лет.

Согласно международным эпидемиологическим исследованиям (*World Development Report*), в мире от инсульта ежегодно умирают 4,7 млн человек. В большинстве стран инсульт занимает 2—3-е место в структуре общей смертности населения, в России второе, уступая лишь кардиоваскулярной патологии. На 1999 г. ранняя 30-дневная летальность после инсульта составила 35 %, в течение года умирают примерно 50 % больных, т.е. каждый второй заболевший.

Инсульт является основной причиной инвалидизации населения. Примерно 55% доживших до конца 3-го года после перенесенного инсульта в той или иной мере не удовлетворены качеством своей жизни [Asplund K., 1998]. Лишь около 20 % выживших больных могут вернуться к прежней работе. Ежегодные потери полноценной жизни в связи с инвалидизацией после инсульта составляют в мире 20,3 млн человеко-лет среди мужчин и 27,5 млн человеко-лет среди женщин [Asplund K., 1998]. Следует отметить, что инсульт накладывает особые обязательства на членов семьи больного и создает тяжелым социально-экономическим бременем на общество. В последние годы средняя стоимость прямых и косвенных расходов на одного больного с инсультом составляет 55 000—73 000 ам. долл. в год, т.е. общие затраты нашего государства, связанные с проблемой инсульта, должны составлять от 10,5 до 22 млрд ам. долл. в год.

Таким образом, церебральный инсульт является проблемой чрезвычайной медицинской и социальной значимости.

Среди всех видов инсульта преобладают ишемические поражения мозга. По данным международных мультицентровых исследований, соотношение ишемического и геморрагического инсультов составляет в среднем 5,0—5,5 : 1, т.е. 80—85 и 15—20 %.

Многолетнее изучение механизмов формирования острой недостаточности мозгового кровообращения позволило выделить четыре группы основных патогенетических факторов [Богоуславский Н.К., 1962, 1971; Бадалян Л.О., 1975; Шмидт Е.В. и др., 1975; Лихачев Е.И., 1979, 1992; Верещагин Н.В., 1980; Helleberg M. et al., 1977; Volinescu V., 1989; Bogouslavsky J., 1991; Scheinberg P., 1991; Fisher M., Bogouslavsky J., 1996; Warlow C.P. et al., 1996]:

- морфологические изменения сосудов, кровоснабжающих головной мозг (структурные поражения, аномалии крупных сосудов мозга, нарушение количества и конфигурации сосудов);
- расстройства общей и церебральной гемодинамики, которые способствуют снижению мозгового кровотока до критического уровня с формированием сосудисто-мозговой недостаточности;
- изменения физико-химических свойств крови, в частности ее свертываемости, агрегации форменных элементов, вязкости, других реологических свойств, содержания белковых фракций, электролитов, недоокисленных продуктов обмена;
- индивидуальные и возрастные особенности метаболизма мозга, вариабельность которых обуславливает различия реакций на локальное ограничение мозгового кровотока.

В популяционных исследованиях показано, что около 50 % острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу являются тромботическим или эмболическим осложнением атеросклеротического процесса в артериях крупного и среднего калибра (атеротромботический инсульт и арте-

ртно-артериальная эмболия), около 25 % связано с патологией мелких интракраниальных сосудов (лакунарный инсульт), около 20 % — с кардиогенной эмболией (кардиоэмболический инсульт), примерно 5 % — с редкими или необычными причинами (гемодинамический инсульт, связанный с острым инфарктом миокарда или другим падением системной гемодинамики; сосудистые нарушения первично воспалительного генеза; травма и расслоение артерий; гематологические нарушения; инфекции; рак и облучение; синдром мойна-мойна и др.) [Warlow C.P. et al., 1996]. Однако независимо от причины и патогенетического варианта развития ишемического инсульта воздействие патогенного сосудистого фактора на ткань мозга результируется возникновением острой фокальной ишемии.

Церебральная ишемия является процессом, составляющим смысл метаболического этапа патогенеза ишемического инсульта, в основе которого лежат универсальные реакции ткани мозга на повреждающие воздействия или изменения окружающей среды, в том числе нарушения обеспечивающих жизнедеятельность мозга сосудистых систем.

Понимание механизмов повреждающего действия церебральной ишемии постепенно развивалось на протяжении последних десятилетий. До 60-х годов XX столетия в ангионеврологии доминировало представление о том, что при остром нарушении мозгового кровообращения ишемическое повреждение возникает сразу и необратимо. Только в конце 70-х — начале 80-х годов появились первые свидетельства процессуальности церебральной ишемии; были сделаны первые попытки раскрыть механизмы постепенного изменения функционального состояния и морфологии тканей мозга на фоне ишемизации. Это позволило сформулировать положение о том, что понятие «церебральная ишемия» подразумевает динамический процесс и потенциальную обратимость вызываемых изменений и не является тождественным понятию «инфаркт мозга», отражающему формирование необратимого морфологического дефекта.

Исследования последних двух десятилетий открыли новый этап в понимании процессов повреждения тканей мозга на фоне острой церебральной ишемии, определили основные механизмы трансформации обратимых гемодинамических, клеточных и молекулярных изменений в стойкий очаговый морфологический дефект — инфаркт мозга. Несмотря на наличие универсальных закономерностей, процесс церебральной ишемии всегда индивидуален, особенности его течения определяются фоновым (до инсульта) состоянием метаболизма мозга, в том числе его энергетическими потребностями, а также статусом и реактивностью единой нейроиммунноэндокринной системы человека.

Значимость новых открытий, связанных с проблемой ишемии мозга, трудно переоценить. На основании проведенных работ доказана отсроченность необратимых повреждений мозга от момента развития острого нарушения мозгового кровообращения; укоренилось отношение к инсульту как к неотложному состоянию, требующему быстрой и патогенетически обоснованной медицинской помощи; сформулирована главенствующая концепция ведения больных с инсультом — концепция «терапевтического окна». Результатом явилось создание специализированных палат и блоков интенсивной терапии для больных с инсультом (*Intensive Stroke Unit*). Видоизменились взгляды на стратегию патогенетического лечения инсульта. Были разработаны и внедрены в практику новые эффективные методы тромболитической и нейропротективной терапии (сн.: цитопротективная терапия, метаболическая защита мозга).

Современным представлениям о церебральной ишемии, клеточных, биохимических и молекулярных механизмах ее развития, ведущих к повреждению ткани мозга, а также стратегии нейропротективной терапии посвящена эта книга.

Часть первая

Механизмы повреждающего действия ишемии головного мозга

Содержание

Глава 1

Гемодинамические события, связанные с острой фокальной ишемией мозга и реперфузией; зона «ишемической полутени»

Последствия острой фокальной церебральной ишемии существенно зависят от продолжительности повреждающего действия определяются прежде всего тяжестью и длительностью снижения мозгового кровотока.

Экспериментально установлен [39, 40, 46, 57] алгоритм метаболических реакций ткани мозга на снижение мозгового кровотока (рис. 1.1). При снижении уровня кровотока до 70—80 % (менее 50—55 мл/100 г ткани мозга в 1 мин — *первый критический уровень*) возникает первая реакция в виде торможения белкового синтеза. По мнению У. А. Товстопляц [40], снижение синтеза белков может быть обусловлено нарушением функционирования рибосом, наблюдаемым на первых этапах ишемии. В то же время даже при тотальном торможении процесса включения аминокислот белковые молекулы синтез определенных белков продолжают [41].

Дальнейшее снижение кровотока до 30 % от нормальной величины (до 35 мл/100 г в 1 мин — *второй критический уровень*) сопровождается активацией анаэробного гликолиза, увеличением концентрации лактата, развитием лактат-ацидоза и тканевого цитотоксического отека (рис. 1.2).

Нарастающая ишемия (снижение кровотока до 20 мл/100 г в 1 мин — *третий критический уровень*) приводит к снижению синтеза аденозинтрифосфата (АТФ), формированию энергетической недостаточности и как следствие к дисфункции каналов активного ионного транспорта, дестабилизации и истощению запасов и избыточному выбросу возбуждающих аминокислотных нейротрансмиттеров.

Когда мозговой кровоток достигает 20 % от нормальной величины (10—15 мл/100 г в 1 мин), нейроны начинают терять ионные градиенты и развивается анокисическая деполяризация мембран [14, 32, 33], которая до настоящего времени считается главным критерием необратимого поражения клеток [38, 39].

Экспериментами G. Mies с соавт. [57] показано, что длительность перечисленных этапов алгоритма реакций ткани мозга на ишемию взаимосвязана. Чем длительнее период умеренного снижения мозгового кровотока и сопровождающей его «мягкой» ишемии, тем короче период тяжелой ишемии.

Уменьшение объема мозгового кровотока влечет за собой значительное ограничение поступления в ткань мозга кислорода и глюкозы. Установлено, что метаболизм кислорода и глюкозы в наибольшей мере страдает в

Мозговой кровоток,
мл/100 г в мин

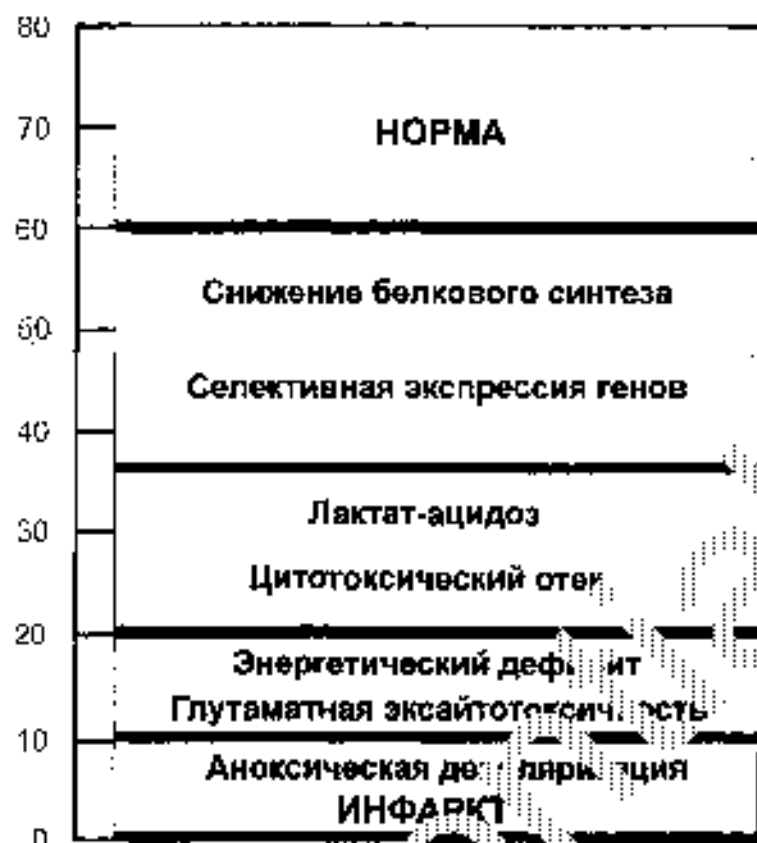


Рис. 1.1. Реакции ткани мозга на снижение мозгового кровотока.

центральной зоне ишемии, большей территории, в меньшей — в демаркационной зоне [62]. Области мозга с наиболее выраженным снижением кровотока (менее 10 мл/100 г в 1 мин) становятся необратимо поврежденной очень быстро, в течение 6—10 мин с момента развития острого нарушения мозгового кровотока («сердцевина», или «ядерная» зона, ишемии) [24] (рис. 1.3). В течение нескольких часов периферичный «точечный» инфаркт окружен ишемизированной, но живой тканью (с уровнем кровотока выше 20 мл/100 г в 1 мин), так называемой *зоной «ишемической полутени»*, или *пенумбры (penumbra)* [13].

В области пенумбры в целом сохранен энергетический метаболизм и присутствуют лишь функциональные, но не структурные изменения [64] (рис. 1.4). Это область «критической», или «нижней», перфузии, где нейрональная функция снижена потому, что не обеспечиваются метаболические запросы ткани, но клетки остаются жизнеспособными с сохранным ионным гомеостазом [73]. Вследствие того что резерв локальной перфузии исчерпан, нейроны в области пенумбры становятся чувствительными к любому дальнейшему падению перфузионного давления, вызванному, например, вторичной гиповолемией (после дегидратации), неадекватной гипотензивной терапией, быстрым вставанием больного. За счет зоны пенумбры происходит постепенное увеличение размеров инфаркта. Зона «ишемической полутени» может быть спасена восстановлением адекватной перфузии ткани мозга и применением нейропротективных средств. Именно пенумбры

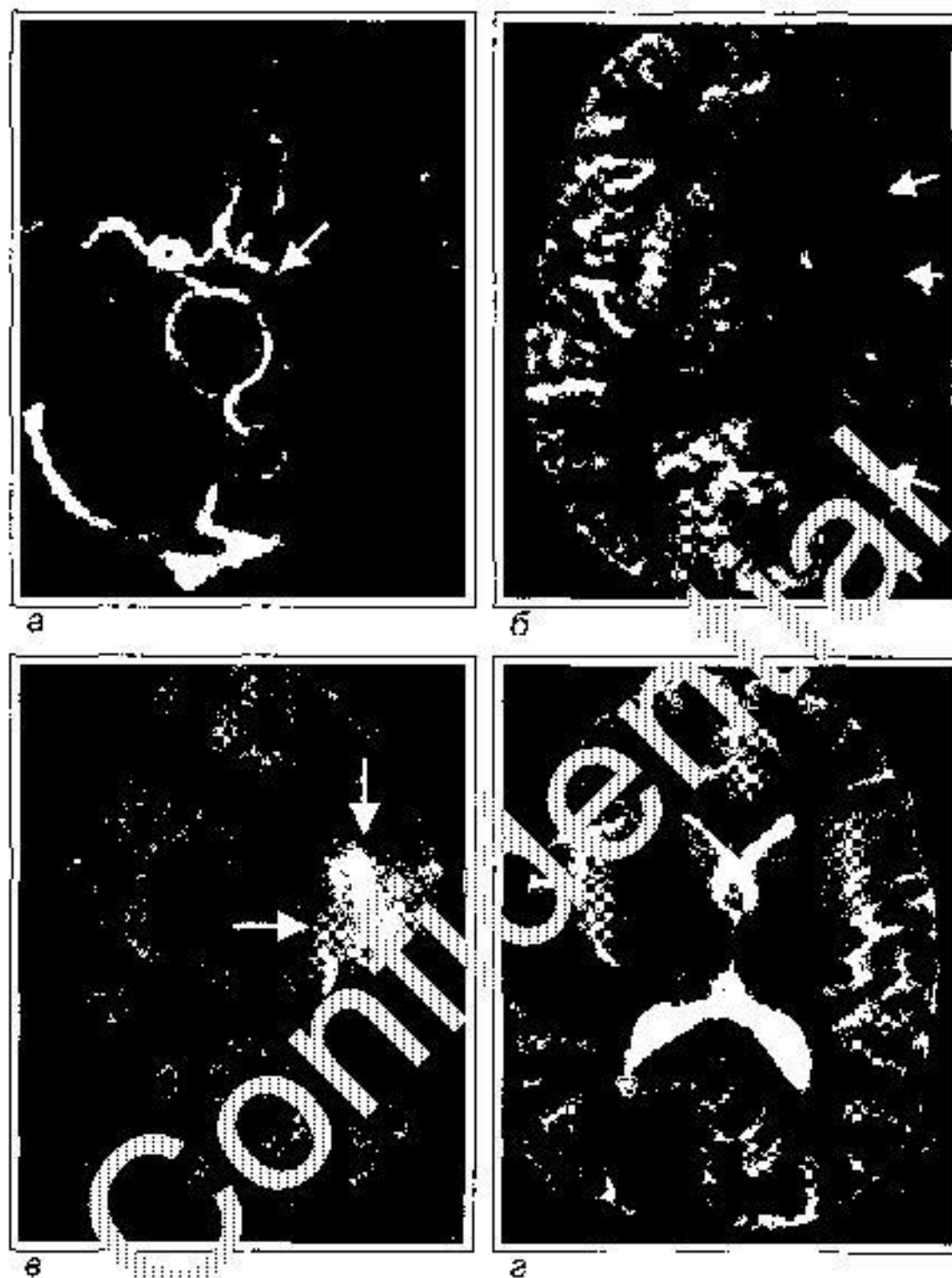


Рис. 1.2. Ранняя МРТ-диагностика церебральной ишемии (первые 4 ч после окклюзии мозговой артерии).

а — МР-ангиография: окклюзия левой средней мозговой артерии (стрелка); б — перфузионный режим: снижение мозгового кровотока в левом полушарии большого мозга (стрелка); в — диффузионный режим: цитотоксический отек в ишемизированной зоне (стрелка); г — T₂-возвращенное изображение: отсутствие морфологического дефекта в ткани мозга.

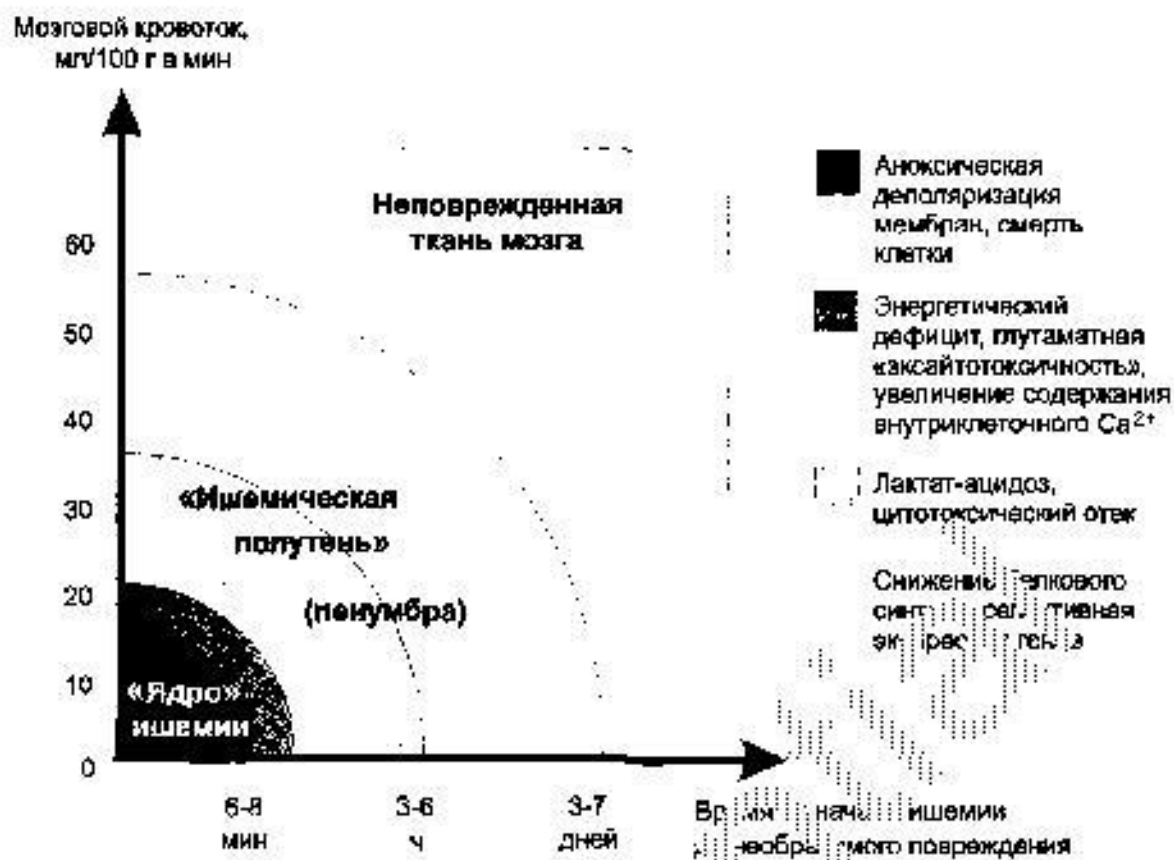


Рис. 1.3. Формирование инфаркта мозга за счет снижения церебрального кровотока.

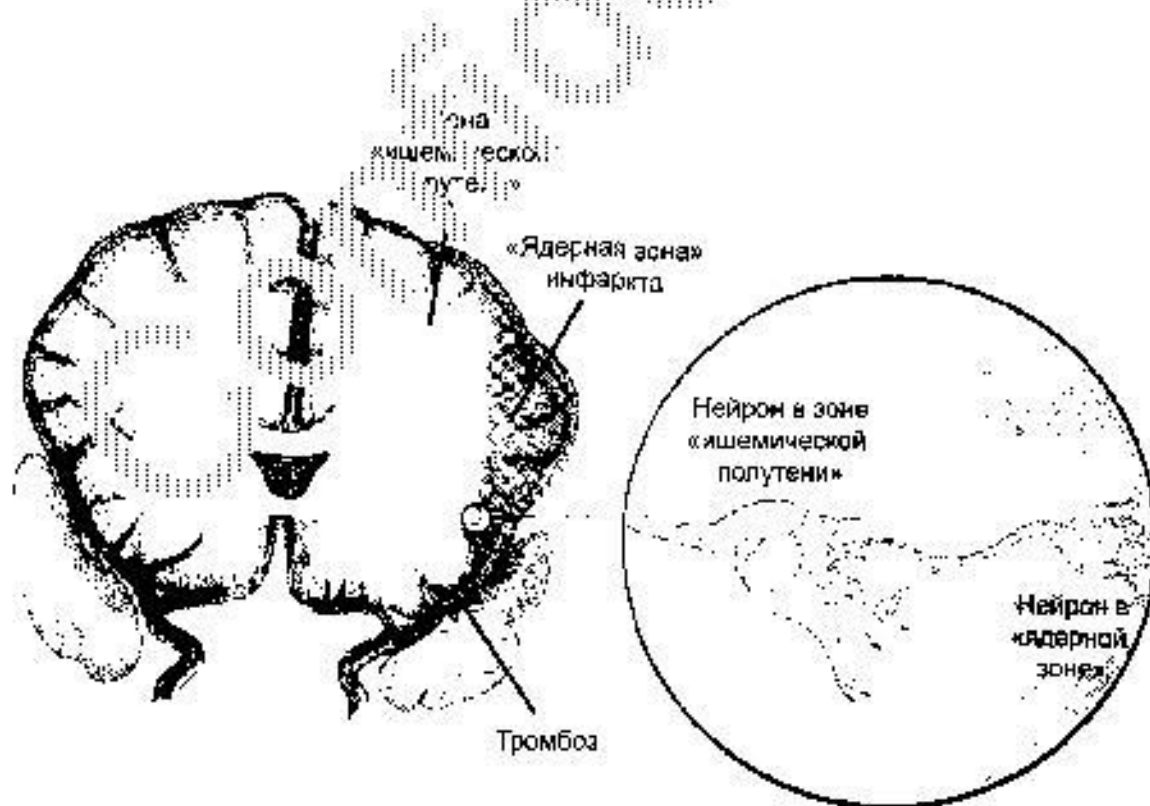


Рис. 1.4. Ишемизированная область головного мозга.

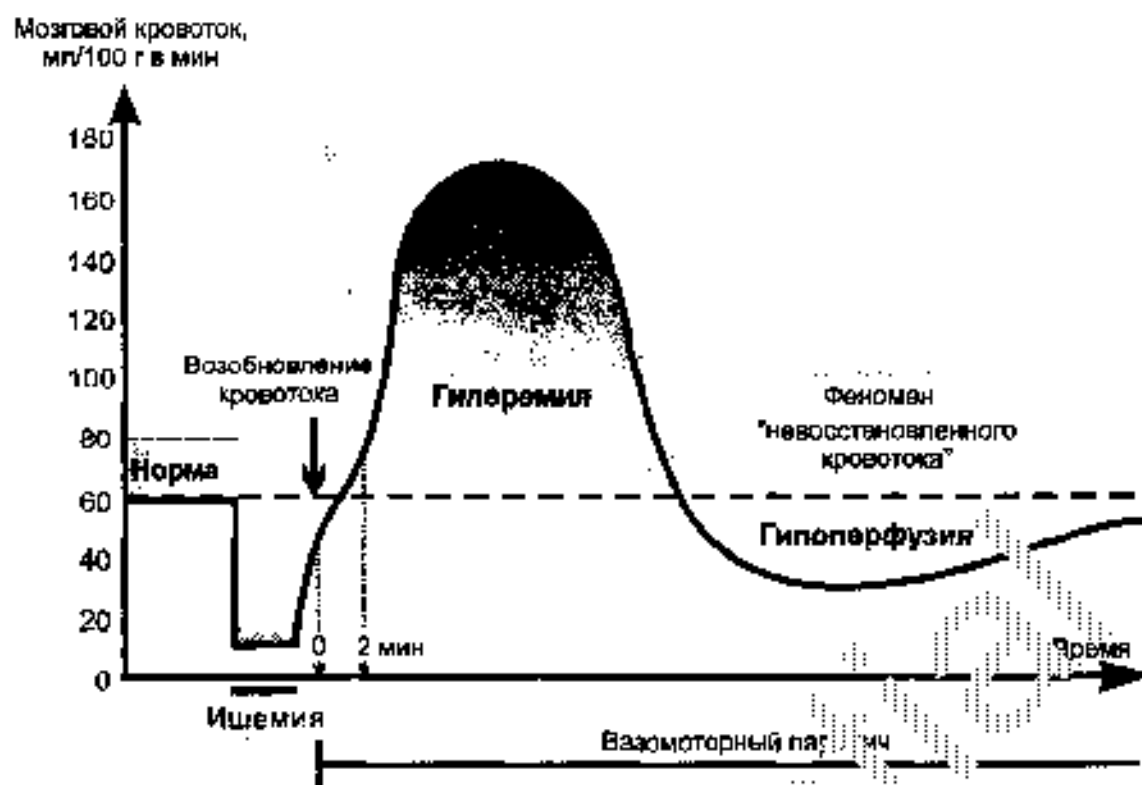


Рис. 1.5. Гемодинамические события, связанные с церебральной ишемией и реперфузией.

является главной мишенью терапии, которая начинается и длится после развития инсульта.

Если артериальная окклюзия носит временный характер или компенсаторно включается плотная сеть анастомозов, то мозговой кровоток полностью или частично восстанавливается в ишемизированный участок [66, 67]. Однако возвращение мозгового кровотока позже чем через 2 мин после устранения окклюзии, и феномен уже запущенных ишемических процессов, не означает его нормализации. Развиваются постинемические нарушения перфузии мозга: начальная фаза постинемической гиперемии сменяется стадией постинемической гипоперфузии (рис. 1.5).

Возникновение постинемической гиперемии [65] («роскошной перфузии») связано не столько обильным поступлением крови через коллатерали или реканализацией закупоренной артерии, но и с высвобождением из ишемизированной ткани вазоактивных и провоспалительных метаболитов, снижением вязкости крови [31, 37, 38, 68], изменением нейронных вазодилататорных механизмов [52, 73]. Наблюдающийся при этом избыток кровотока не соответствует метаболическим потребностям ткани мозга, что сопровождается уменьшением фракции экстрагированного кислорода.

Вслед за стадией гиперемии происходит снижение мозгового кровотока ниже доинемического уровня (постинемическая гипоперфузия), что также является результатом отороченных метаболических изменений в ишемизированной ткани, вызванных активацией микроглии и синтезом большого количества провоспалительных факторов, ведущих к тяжелым изменениям микроциркуляции, микроваскулярной обструкции [31, 37, 38, 41, 42, 68]. Таким образом, восстановление артериального кровотока сопровождается неполной реперфузией ранее ишемизированной ткани. Данный феномен

получил название «невозстановленный кровоток» (*no-reflow*) [9]. Основными механизмами его формирования являются повышение вязкости и внутрисосудистой свертываемости крови, развитие микроваскулярных окклюзий за счет сдавления капилляров мозга расположенными вокруг отечными астроцитами, повышение внутричерепного давления, формирование отежности эндотелия сосудистого русла и образование эндотелиальных микроворсинок, а также постишемическая гипотензия [37, 38]. Работами С. Iadecola [41] показано, что в постишемическом периоде церебральная циркуляция находится в состоянии паралича, реактивность сосудов мозга малого и среднего калибра к гиперкапнии резко снижена, цереброваскулярная ауторегуляция нарушена. Если в неповрежденном мозге уровень кровотока тесно связан с метаболическими потребностями, то в постишемическом периоде функциональная активация мозга не приводит к адекватному нарастанию мозгового кровотока.

При частичном восстановлении кровотока за счет компенсаторного включения коллатералей развивается особое динамическое состояние ишемизированной ткани в виде мозаичных изменений уровня перфузии (феномен «пространственной и временной динамики микроциркуляции») [60]. В зоне пенумбры и инфаркта возникает чередование «риск» — относительной и/или абсолютной гиперемии и гипоперфузии.

Феномен «невозстановленного кровотока» особенно характерен при длительно существующей ишемии, а также при ишемии, связанной с венозной обструкцией, приводящей к застою крови в сосудах микроциркуляторного русла [37, 38]. Неполная реперфузия ограничивает возможности выживания ишемизированной ткани. Экспериментальные исследования [47, 63] показали, что терапевтическая реперфузия, проведенная в течение 48 ч после окклюзии сосуда, может уменьшить размер зоны повреждения и улучшить восстановление функций мозга. Однако проблема терапевтической реперфузии чрезвычайно сложна, усложнена при позднем ее начале с опасностью дополнительного реперфузионного повреждения нервной ткани: оксидантного, обусловленного включением кислорода в процессы свободнорадикального окисления [50], и осмотического, вызванного нарастанием отека мозга вследствие избытка воды и осмотически активных веществ [45] (см. главу 4).

Зона «ишемического повреждения» представляет не только топографическую зону, но и динамический процесс распространения биоэнергетических нарушений от ядерной зоны инфаркта к периферии [29]. Длительность существования пенумбры индивидуальна у каждого больного и определяет границы «терапевтического окна», внутри которого с наибольшей эффективностью могут проводиться лечебные мероприятия («терапевтическое окно»). Результаты экспериментальных исследований показали, что при острой локальной ишемии мозга «терапевтическое окно» значительно более узкое, чем при глобальной ишемии [30, 33, 49—51, 61].

Глобальная церебральная ишемия, возникающая при остановке сердца или тяжелой системной артериальной гипотензии, приводит лишь к селективным нейрональным изменениям в наиболее уязвимых и чувствительных к ишемии областях мозга (пирамидные нейроны СА₁ зоны гиппокампа, нейроны средней величины дорсолатерального отдела стриатума). Нейропатологические изменения проявляются отсроченно: в стриатуме — через 4—8 ч, в СА₁ области гиппокампа — иногда через 2—3 дня после развития глобальной ишемии. В связи с этим спасение ткани мозга при глобальной ишемии возможно даже при начале лечения через 24 ч с момента ее возникновения [29].



Рис. 1.6. МР-томограммы, выполненные в T₂-взвешенном режиме
 а — через 4 ч после окклюзии мозговой артерии: отек, структурные изменения;
 б — на 7-е сутки: формирование инфарктных изменений в периферической зоне толвой
 ного мозга (стрелки).

Формирование большей части иррегулярной фокальной ишемии заканчивается через 3–6 ч с момента появления первых клинических симптомов инсульта [21, 30, 34, 58, 61]. В то же время длительность развития морфологического повреждения зависит от области мозга и селективной чувствительности нейронов к ишемии [23]. Применение наиболее чувствительных иммуногистохимических методов [44, 54, 55], использование метаболитических красителей (трифенилгестрол и хлорид) и современных модификаций магнитно-резонансной (МРТ) и позитронно-эмиссионной (ПЭТ) томографии [18, 35, 59] установило, что «сформирование» инфаркта продолжается на протяжении длительного времени — до 48–72 ч с момента развития инсульта, инсульта, повреждения и дольше [11] с учетом изменений сохраняющегося отека мозга и других измененных последствий ишемии (см. главы 6–10). По экспериментальным данным С. Chivimbera с соавт. [22], отек способствует расширению области повреждения в мозге в течение 1-й недели инсульта. Со 2-й недели жидкость начинает резорбироваться, макрофаги удаляют умершие клетки и инфарктная зона уменьшается в размерах за счет процессов прогрессирующей атрофии.

Применение методов визуализации (МРТ, ПЭТ) для мониторингового слежения за зоной ишемии позволило подтвердить значительную индивидуальную вариабельность границ «терминального окна» (рис. 1.6). Использование ПЭТ при экспериментальном ишемическом инсульте у приматов [15, 69, 72, 74] установило, что обратимые изменения в области не-нумбры могут сохраняться в течение многих часов, а иногда и нескольких дней после артериальной окклюзии. G. Marchal с соавт. [53] по результатам ПЭТ обнаружили через 18–24 ч после развития инсульта в некротизированной зоне мозга ишемизированную, но, вероятно, жизнеспособную

ткань, характеризующуюся при мозговом кровотоке около 22 мл/100 г в 1 мин очень высокими фракцией экстрагированного кислорода и скоростью мозгового метаболизма по кислороду. По данным S.C. Jones с соавт. [48], A.J. Furlan [27], ткань, демонстрирующая аналогичные физиологические характеристики, может избегать формирования инфаркта, и ее следует рассматривать как «подверженную риску инфаркта». У отдельных пациентов [17, 26] «терапевтическое окно» оказалось значительно длиннее установленных ранее 3—6 ч. Индивидуальная вариабельность «терапевтического окна», по-видимому, связана как с компенсаторными возможностями сосудистого русла (адекватность коллатерального кровообращения), так и с фоновым (до развития инсульта) состоянием метаболизма мозга, реактивностью нейроиммунноэндокринной системы. Длительное существование ишемической пенумбры в отдельных наблюдениях позволяет надеяться на возможность разработки эффективных средств нейропротекции, изменяющих чувствительность ткани мозга к ишемии и помогающих клеткам выжить.

На протяжении последних лет изучалась возможность применения клинических критериев для определения состояния ишемической пенумбры и границ «терапевтического окна». Ряд исследований [26] предполагал связь между клиническим прогрессированием инсульта через 12—24 ч после его развития и ухудшением состояния пенумбры, трансформацией функциональных изменений в необратимый морфологический дефект (инфаркт), особенно в случаях отсутствия раннего формирования отека мозга и геморрагической трансформации очага. Поэтому, такая взаимосвязь возможна, учитывая неблагоприятное влияние гипергликемии, системного ацидоза, отдаленных последствий ишемии в области пенумбры. Вместе с тем клинические и функциональные критерии не позволяют достоверно судить об обратимости изменений ткани мозга, вызывающих неврологическую симптоматику. Интерпретация клинических признаков для определения границ «терапевтического окна» опасна, так как начало клинических проявлений всегда предшествует образованию изменений ткани мозга в необратимые [29]. Кроме того, известно, что даже минимальные повреждения в функционально насыщенных зонах мозга могут проявляться выраженным неврологическим дефицитом. С другой стороны, даже при фиксированных инфарктных изменениях возможна частичная или полная обратимость функционального дефекта за счет исчезновения дисфункционального статуса, вызванного пространственным транзиторным торможением активности и фронто («диализ») в удаленных от очага ишемии областях [8, 10, 22], а также с генераторно-репаративных процессов, повышения пластичности мозга, формирования новых полисинаптических связей [4, 29, 70].

Таким образом, исследования 80—90-х годов XX столетия доказали существование в первые часы и дни после развития ишемического инсульта зоны пенумбры — ишемизированной, но живой ткани мозга — основной мишени для терапевтических воздействий; создали концепцию «терапевтического окна», значительно изменившую практические подходы к ведению больных в остром периоде инсульта, требующую безотлагательной патогенетически обоснованной терапии (желательно в первые 3 ч). Доказательства отсутствия жестких временных границ «терапевтического окна» и раскрытие индивидуальных особенностей ишемических процессов в зоне пенумбры явились мощными стимулами для разработки новых стратегий реперфузии ишемизированной ткани и нейропротекции.

Литература

1. Бадалян Л.О. Неврологические синдромы при болезнях сердца. — М.: Медицина, 1975; 416.
2. Боголепов Н.К. Журн Невропатол и психиатр 1962; 8: 1137—1142.
3. Боголепов Н.К. Церебральные кризы и инсульт. — М.: Медицина, 1971; 392.
4. Боголепов Н.Н., Бурд Г.С. Материалы VII Всесоюз. съезда невропатол. и психиатр. — М., 1981; 2: 32—35.
5. Верещагин Н.В. Патология вертебробазилярной системы и нарушения мозгового кровообращения. — М.: Медицина, 1980; 310.
6. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга: Актовая речь. — М., 1992.
7. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Боголепов Н.Н. Сосудистые заболевания головного мозга. — М.: Медицина, 1979; 142.
8. Скорцова В.Н. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1993; 379.
9. Ames A., Wright R., Kawada M. et al. Amer J Pathol 1968; 52: 437—453.
10. Andrews R.J. Stroke 1991; 22: 943—949.
11. Asplund K. Cerebrovasc Dis 1992; 2: 317—319.
12. Asplund K. European White Book on Stroke. 1998.
13. Astrup J., Siesjö BK, Symon L. Stroke 1981; 12: 723—725.
14. Astrup J., Symon L., Brunston N. M. et al. Stroke 1977; 8: 51—57.
15. Baird A.E., Benfield A., Schlaug G. et al. Ann Neurol 1997; 41: 781—79.
16. Baron J.C. Cerebrovasc Dis 1991; 1: 22—31.
17. Baron J.C., van Humer R., del Zoppo G.J. Stroke 1991; 22: 219—2221.
18. Baron J.C., Frackowiak R.S.J., Herholz K. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1989; 9: 723—742.
19. Bogousslavsky J. Cerebrovasc Dis 1991; 1: 61—71.
20. Bogousslavsky J., Regli F.F., Maeder P. Cerebrovasc Dis 1991; 1: 154—159.
21. Butcher S.P., Bullock R., Graham D.I. et al. Stroke 1990; 21: 1727—1733.
22. Chlamulec C., Terron A., Raggiani A. et al. Brain Res 1993; 606 (2): 251—258.
23. Dereski M.O., Chapp M., Knight J.A. et al. Acta Neuropathol 1993; 85: 327—333.
24. Fisher M., Takano K. In: I. Hirschowitz et al. (eds) Cerebrovascular disease (Hachinski V. ed.). London 1991; 279—296.
25. Fisher M., Bogousslavsky J. Current Review of Cerebrovascular Disease. Philadelphia, CM 1996; 237.
26. Fisher M., Garcia J.H. Neurology 1996; 47: 884—888.
27. Furlan A.J. Cleve Clin J Med 1995; 62 (1): 6—8.
28. Ginsberg M.D. Rev Neurol 1990; 68—93.
29. Ginsberg M.D. Neurostrategies to prevent neural damage from ischemic stroke. New York 1994; 1—34.
30. Ginsberg M.D., Pulsinelli W.A. Ann Neurol 1994; 36: 553—554.
31. Hallenbeck J.M. Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma. New York 1996; 27—31.
32. Hansen A.J. Neurosci Rev 1985; 65: 101—148.
33. Heitz W.-D., Kosner G. Ann Neurol 1983; 14: 294—301.
34. Heitz W.-D., Graf R. Curr Opin Neurobiol 1994; 1: 11—19.
35. Heitz W.-D., Huber M., Fink G.R. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1992; 12: 193—203.
36. Hannerici M., Klemm C., Rautenberg W. Neurology 1988; 38: 669—673.
37. Hossmann K. A. Prog Brain Res 1993; 96: 161—177.
38. Hossmann K. A. Resuscitation 1993; 26: 225—235.
39. Hossmann K. A. Ann Neurol 1994; 36: 557—565.
40. Hossmann K. A. Brain Pathol 1994; 4: 23—36.
41. Iadecola C. Cerebral circulatory dysregulation in ischemia. In: Cerebrovascular Diseases (Ginsberg M.D., Bogousslavsky J. eds). Blackwell, Cambridge, MA 1998; 319—332.

42. Iadecola C. Mechanisms of cerebral ischemic damage. In: Cerebral Ischemia (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 3—33.
43. Iadecola C., Zhang F., Nogawa S., Ross M.E. Post-ischemic gene expression and cerebral ischemic damage: Role of inducible nitric oxide synthase. In: Frontiers in Cerebrovascular Disease: Mechanisms, Diagnosis and Treatment (Robertson J.T. Nowak T.S., eds.). New York, Futura Publications 1998; 299—313.
44. Isayama K., Pflits L.H., Nishimura M.C. Stroke 1991; 22: 1394—1398.
45. Ito U., Ohno K., Nakamura R. et al. Stroke 1979; 10: 542—547.
46. Jacewicz M., Klesling M., Pulsinelli W.A. J Cereb Blood Flow Metab 1986; 6: 263—272.
47. Jones T.H., Morawetz R.B., Crowell R.M. J Neurosurg 1981; 54: 773—782.
48. Jones S.C., Perez-Trepichio A.D., Xue M. et al. Acta Neurochir Suppl 1994; 60 (-HD-): 207—210.
49. Kirino T. Brain Res 1982; 239: 57—69.
50. Kirino T., Sano K. Acta Neuropathol 1984; 62: 209—218.
51. Kirino T., Tamura A., Sano K. Acta Neuropathol 1984; 64: 139—147.
52. Macfarlane R., Tasdemiroglu E., Moskowitz M.A. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1991; 11: 261—271.
53. Marchal G., Beaudoin V., Rivoux P. et al. Stroke 1996; 27: 599—606.
54. Matsumoto K., Yamada K., Kohmura E. et al. Neurol Res 1994; 16 (6): 437—464.
55. Matsumoto K., Yamamoto K., Hamburger H.A. et al. Mayo Clinic Proc 1991; 62: 460—472.
56. McCord J.M. N Engl J Med 1985; 312: 159—163.
57. Mies G., Ishimaru S., Xie Y. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1991; 11: 753—761.
58. Ozyurt E. J Cereb Blood Flow Metab 1988; 8: 138—145.
59. Pappata S., Fiorelli M., Ronnel T. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1993; 13: 416—424.
60. Pulsinelli W.A. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 10079—10503.
61. Pulsinelli W.A., Brierley J., Plum F. Ann Neurol 1982; 4: 481—498.
62. Scheinberg P. Neurology 1991; 41: 1867—1871.
63. Siejo B.K. J Neurosurg 1992; 77: 169—174.
64. Symon L., Branston N.M., Strong A.J. et al. Clin Pathol 1977; 30: 149—154.
65. Tomihashi N. Cerebral microcirculatory reserve for hyperemia. In: Cerebral hyperemia and ischemia (Tomita M., Sawada T., Naritoku H., Heiss W-D. eds.). Amsterdam, ICS 764, Excerpta Medica 1988; 1—10.
66. Tomita M. Significance of cerebral blood volume. In: Cerebral hyperemia and ischemia (Tomita M., Sawada T., Naritoku H., Heiss W-D. eds.). Amsterdam, ICS 764, Excerpta Medica 1988; 3—11.
67. Tomita M. Microcirculatory stasis in the brain. In: Microcirculatory stasis in the brain (Tomita M., Mchugh G., Rosenblum W.L., Heiss W-D., Fukuchi Y. eds.). Amsterdam, ICS 107, Excerpta Medica 1993; 1—7.
68. Tomita M., Naritoku H. Acta Neurochir 1996; 66: 32—39.
69. Toussard A., Young P., Derlon J.M. et al. Stroke 1995; 26: 12—21.
70. Twitchell T.E. Brain 1951; 74: 443—480.
71. Valucka V. Neuropsychiatrorum Med 1989; 27 (3): 175—186.
72. Warach S., Gao L., Stewart B. et al. Ann Neurol 1995; 37: 231—241.
73. Warlow C., Jennett M.S., van Gijn J. et al. Stroke. A practical guide to management. Oxford, Blackwell Science Ltd 1996; 6.
74. Welch K.M.A., Windham J., Knight R.A. et al. Stroke 1995; 26: 1983—1989.

Глава 2

Клеточные реакции, связанные с острой фокальной ишемией мозга

Развитие острой фокальной ишемии мозга запускает патолохимические реакции, которые протекают во всех основных клеточных типах нервной ткани и вызывают нейрональные нарушения, астроциты, микроглиальную активацию, а также сочетанные с ними изменения макрофилов, макрофагов, эндотелиальных клеток.

Размер центрального инфаркта мозга и последующая клеточная реакция на ишемию, определяющая состояние зоны пенетрации, варьируют в зависимости от тяжести и продолжительности ишемии. При «мягкой» или кратковременной фокальной ишемии поражаются только селективно чувствительные нейроны [10]. По мере удлинения ишемического периода избирательность клеточной гибели теряется, так же, как и повреждение прогрессирует по общим закономерностям [5]. Фактически формируются инфарктного очага по механизмам некроза и апоптоза.

В области «ишемической полутени» астроциты и в большей степени поражаются клетки глии, чем нейроны коры головного мозга [37]. При этом процессы повреждения всех клеточных типов мозга взаимосвязаны и зависят друг от друга.

Глиальные клетки количественно значительно преобладают над нервными и занимают весь объем между сосудами и нейронами. Большинство центральных нейронов тесно окружены клетками нейроглии, что нередко трудно отделить нейрональную фракцию от нейроглиальной [4]. Тесная морфологическая взаимосвязь является основой для физиологических и патологических взаимодействий глии и нейронов [32, 46]. Результатом столетнего изучения взаимоотношений глии и нейронов явилось развитие концепции существования в центральной нервной системе (ЦНС) динамических нейро-глиальных сигнальных процессов, которые ранее представлялись лишь как пассивная передача информации между этими клеточными типами [38]. Возможность передачи сигналов от нейронов к глии и, таким образом, к другим нейронам открывает много вариантов для межклеточных «перекрестных разговоров» [32]. Глия не является лишь трофическим клеточным компонентом нервной системы, а принимает активное участие в специфическом функционировании нервной ткани: вносит значительный вклад в электрогенез мозга, в норме тормозит гиперактивность нейронов; в регулирование адекватного энергетического потока при активации нейронов путем потребления глюкозы [7, 30, 31] и выработки лактата, являющегося адекватным энергетическим субстратом [9, 42, 44] (см. раздел 4.1.2). Астроглия благодаря избирательно повышенной проницаемости для ионов K^+ регулирует активацию ферментов, необходимых для поддержания метаболизма нейронов, а также для удаления медиаторов и

других агентов, выделяющихся в процессе нейрональной активности [4, 8]. Важное значение при фокальной церебральной ишемии имеет активный захват астроцитами из синаптической щели и метаболизация глутаминовой кислоты [8], избыточная концентрация которой способна вызывать необратимое повреждение нейронов (см. раздел 4.1). Глия участвует в синтезе иммунных медиаторов — цитокинов, других сигнальных молекул (циклический гуанозинмонофосфат — *cGMP*, оксид азота — *NO*), передаваемых затем нейронам, в синтезе глиальных ростовых факторов (*GDNF*), участвующих в трофике и репарации нейронов. В последние годы установлена способность астроцитов, отростки которых тесно переплетены с дендритами нейронов и охватывают терминалы, реагировать на увеличение синаптической концентрации нейротрансмиттеров [5, 31, 40] и изменения электрической активности нейронов собственными реципрокными изменениями концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} . Это создает «волну» миграции ионов Ca^{2+} между астроцитами, вызывающую в определенных зонах мозга осцилляцию их концентрации, которая в свою очередь может модулировать состояние многих нейронов [4]. В условиях острой фокальной ишемии мозга механизмы отсроченной смерти нейронов непосредственно связаны с агрессивным воздействием возбужденной ишемией нейронами еще жизнеспособные клетки перинфарктной области [17, 39] (см. раздел 8.1).

Несмотря на теснейшие взаимоотношения системы астроглии, метаболические процессы в них строго компартментализованы. Смысл метаболических компартментов заключается в пространственном отделении биосинтетических процессов от тех метаболических путей, которые строго контролируются энергетическими нуждами [1, 4]. В этих условиях построение внутренних механизмов связи, обеспечивающих сходные сигналы (нейротрансмиттеры, цитокины, факторы роста, гормоны) и действующих на сходные распознающие мишени (рецепторы), обеспечивает взаимодействие нервной, иммунной и эндокринной систем для осуществления единого организованного ответа на патологические воздействия, в том числе на острую церебральную ишемию [32, 33].

По данным исследований, проведенных на моделях экспериментального инсульта в результате окклюзии радиальной мозговой артерии у крыс, была установлена последовательность реакций разных клеточных пулов мозга на острую фокальную ишемию. Безусловно, существуют различия в развитии процессов повреждения мозга грызунов и приматов [43], однако просматриваемые общие черты позволяют в определенной мере экстраполировать данные экспериментов на понимание клеточных механизмов ишемии при инсульте человека (схема 2.1).

Первые изменения в нейронах наблюдаются через 30 мин после окклюзии сосуда и проявляются признаками сморщивания. Через час в нейронах начинаются явления группировки гетерохроматина, расширение эндоплазматического ретикулума, вакуолизацию, набухание внутреннего митохондриального матрикса [16, 18]. Эти потенциально обратимые изменения сохраняются примерно первые 6 ч. Через 10–12 ч в ядерной зоне ишемии обычно обнаруживаются признаки необратимого клеточного повреждения в виде разрушения цитоплазматических и ядерных мембран, отложения богатых кальцием солей во внутренней митохондриальной мембране [16, 18]; в зоне пенумбры обратимые изменения сохраняются более длительно. Первые клетки-«тени» (умершие нейроны) находят в ткани мозга на 2–3-и сутки после инсульта.

Наряду с перечисленными признаками некротической смерти нейронов в ишемизированной области мозга, вдоль внутренней границы зоны

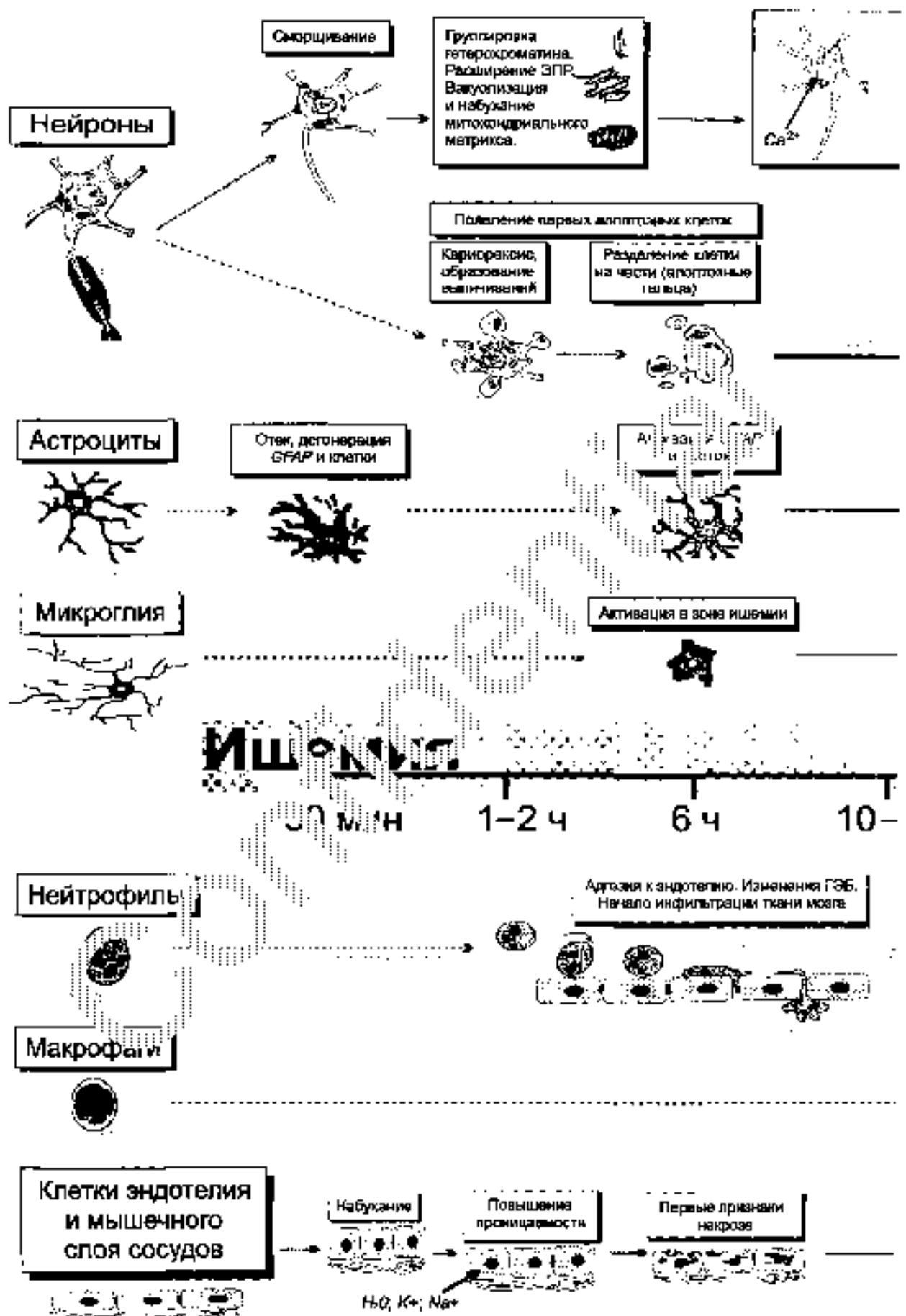
ишемического ядра, наблюдаются клетки, погибающие по механизму программированной смерти — апоптоза [11, 12, 28, 29, 40]. Первые из них появляются уже через 2 ч после инсульта, максимальное количество апоптозных клеток выявляется через 24—48 ч, а затем отмечается тенденция к его снижению [14]. Однако апоптозные нейроны определяются в зоне «ишемической полутени» на протяжении 4 нед. Морфологические признаки апоптоза и критерии отличия его от некроза приведены в главе 10.

Изменения астроцитов в виде набухания, фрагментации отростков и дезинтеграции наблюдаются с первых минут ишемии, предшествуя нейрональным изменениям [18], и сопровождаются снижением экспрессии астроцитарного маркера — кислого глиального фибриллярного белка (*GFAP*) [13, 18]. Однако через 4—6 ч после развития ишемии отмечается активация астроцитов, окружающих ишемическую зону, которые начинают усиленно синтезировать *GFAP* [18]. В более поздние сроки (через 24 ч) вокруг области инфаркта образуется сеть *GFAP*-позитивных астроцитов. Астроцитарная реакция становится все более агрессивной и ведет к формированию глиального рубца в конце 1-й — начале 2-й недели после развития инсульта [15].

Микроглия, по свидетельству M. D. Graeber, W. J. Strittmatter, P. Wood [46], является единственным в центральной нервной системе представителем иммунокомпетентных клеток, способных защитить мозг от повреждающих факторов. Она широко представлена во всех тканях мозга человека и составляет 9—12 % от общей глиальной популяции в сером веществе и 7,5—9 % — в белом веществе. В отличие от астроцитов микроглиальные клетки происходят из стволовых клеток. В нормальных условиях они имеют ветвистую форму с множеством отростков [21], находятся в состоянии функционального покоя, могут длительно оставаться активированными до увеличения продукции ряда токсинов, провоспалительных медиаторов [6], но затем быстро возвращаются в состояние покоя. В патологических условиях (в том числе при инсульте) микроглиальные клетки вытягивают отростки и принимают амёбозную форму, чему соответствует их выраженные функциональные изменения вплоть до готовности к фагоцитозу [21]. Клетки не возвращаются к состоянию покоя, а продолжают синтезировать большой спектр токсичных для ткани соединений, хронически поддерживать воспалительные реакции, что ведет к отсроченным нейрональным потерям, микроциркуляторным нарушениям, изменениям гематоэнцефалического барьера [2, 3, 35, 45] (см. раздел 8.2). К концу 1-го дня после развития инсульта активированная микроглия широко представлена во всей области ишемии, особенно в зоне пенумбры [22, 36]. В дальнейшем зона ее локализации продолжает расширяться, и к 5-му дню активированные микроглиальные клетки обнаруживают в отдаленных от очага ишемии областях мозга, что, по-видимому, является следствием процессов антеро- и ретроградной нейрональной дегенерации [2, 3, 36]. Подтверждает активность транснейрональной дегенерации параллельное обнаружение на отдалении от очага ишемии комплекса гипоксически-метаболических нарушений в нейронах в виде изменений тинкториальных свойств цитоплазмы, повреждения митохондрий, изменений ДНК и РНК ядра и цитоплазмы, продукции эндоплазматической сети [2, 3].

Уже через 6—8 ч после развития инсульта появляются реактивные изменения нейтрофилов в микроциркуляторном русле, которые вызваны активацией микроглии и резким повышением синтеза провоспалительных факторов, молекул клеточной адгезии. Характерными признаками являются адгезия нейтрофилов к эндотелию малых сосудов, проникновение их через гематоэнцефалический барьер и инфильтрация ими ишемизирован-

Схема 2.1. Динамика клеточных реакций



на фоне острой фокальной ишемии

Разрушение
цитоплазматического
и ядерного мембран.
Остановка синтеза
на внутренней мембране
митохондрий.
Апоптотический статус.
Разрывы мембран,
дымное ядро

Клеточ-смерть



Массивное воспаление клеток



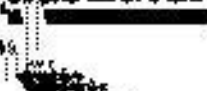
Сеть GFAP-клеток
Клеточ-смерть



Массивное воспаление
Повреждение клеток



Активный ней
открыт. 4-5 сут после



12 ч 24 ч 2-3 сут 4-5 сут 7-10 сут

Массивное воспаление
Повреждение клеток



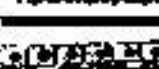
Начало инфильтрации
тканей мозга



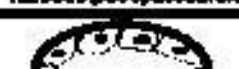
Массивное воспаление
Повреждение клеток



Пролиферация



Клеточ-смерть



ной ткани мозга [15, 16, 20, 47, 48]. Временная динамика реакции нейтрофилов варьирует в зависимости от особенностей ишемического процесса. После постоянной экспериментальной окклюзии средней мозговой артерии максимум нейтрофильной инфильтрации приходится на 48—96 ч с момента развития инсульта [15, 48, 49], затем количество нейтрофилов в ткани мозга начинает снижаться.

Макрофаги из кровяного русла начинают проникать в ишемизированную нервную ткань в конце 1-х суток после экспериментального инсульта, однако процесс инфильтрации макрофагами зоны ишемии становится максимально выраженным только на 5—7-е сутки (см. раздел 8.2.).

Изменения состояния клеток эндотелия микроциркуляторного русла выявляются с первых минут острой фокальной ишемии мозга. Примерно через 30 мин наблюдается их набухание, через 1 ч — повышенная проницаемость мембран; через 6 ч появляются признаки некроза отдельных клеток, ко 2—3-му дню — пролиферация как эндотелиальных, так и гладкомышечных клеток сосудистой стенки [24]. В то же время церебральная ишемия активирует процессы ангиогенеза и неоваскуляризации. К 3—7-му дню после экспериментального инсульта в перинифарктной зоне начинается процесс образования новых капилляров [15], который индуцируется потенциально ангиогенными факторами роста, молекулами клеточной адгезии, интегринами. В работах J. Kupinski с соавт. [26, 27] показано, что неоваскуляризация является благоприятным признаком, позволяющим прогнозировать улучшение процессов восстановления ткани мозга и выживания нейронов в зоне пенумбры.

Литература

1. Ашмарин И.П., Стукалов П.В. Нейрохимия. М.: Изд-во Ин-та Био-мед химии РАМН, 1996.
2. Боевиков Н.Н., Бурд Г.С. Материалы VII Всесоюзного съезда невропатологов и психиатров. — М., 1981; 323.
3. Бурд Г.С. Дыхательная недостаточность у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения: Дис. д-ра мед. наук. — М., 1983, 355.
4. Флеров М.А. Биохимические основы функции и взаимодействия нейронов и нейроглии. В кн.: Нейрохимия (Ашмарин И.П., Стукалов П.В. ред.). — М., 1996; 193200.
5. Andriezen W.L. *Anatomic and Physiologic* 1993; 10: 532—540.
6. Banati R.B., Gerhardt T., Schubert P., Kreutzberg G.W. *Glia* 1993; 7: 111—118.
7. Barina J. *Science* 1977; 276: 196—198.
8. Barry B.A. *J Neurocytology* 1991; 11: 3685—3694.
9. Bittu P.G., Chinay Y., Pellerin L. et al. *J Cerebral Blood Flow Metab* 1996; 16: 1079—1089.
10. Brierley J.P., Graham D.I. In: Greenfield's Neuropathology (Adams J.H., Corsellis J.A.N., Duncan L.W. eds.). London 1984; 125—207.
11. Charriaut-Marlangue C., Margall J., Plotkine M. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 385—388.
12. Charriaut-Marlangue C., Margall J., Represa A. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 186—194.
13. Chen H., Chopp M., Schultz L. et al. *J Neurol Sci* 1993; 118: 109—106.
14. Chopp M., Li Y. *Acta Neurochir* 1996; 66: 21—26.
15. Clark R.K., Lee E.V., Fish C.J. et al. *Brain Res Bull* 1993; 31: 565—572.
16. Garcia J.H., Liu K.F., Ho K.L. *Stroke* 1995; 26: 636—642.
17. Garcia J.H., Liu K.F., Fisher M., Taribumak T. *Cerebrovasc Dis* 1995; 6: 180.
18. Garcia J.H., Yoshida Y., Chen H. et al. *Am J Pathol* 1993; 142: 623—635.

19. Garcia J.H., Liu K.F., Yoshida Y. et al. *Am J Pathol* 1994; 144: 188—199.
20. Garcia J.H., Liu K.F., Yoshida Y. et al. *Am J Pathol* 1994; 143: 728—740.
21. Giulian D. Reactive microglia and ischemic injury. In: *Primer on Cerebrovascular Diseases* (Welch M., Caplan L., Siesjo B., Weir B. Reis D.J. eds.). San Diego, CA, Academic 1997; 117—124.
22. Giulian D., Corpeuz M., Chapman S. et al. *J Neurosci Res* 1993; 36: 681—693.
23. Graeber M.D., Streit W.J. *Brain Pathol* 1990; 1: 2—5.
24. Iadecola C. Mechanisms of cerebral ischemic damage. In: *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 3—33.
25. Kogure K., Yamazaki Y., Matsuo Y. et al. *Acta Neurochir* 1996; 66: 40—43.
26. Krupinski J., Kaluz J., Kumar P. et al. *Lancet* 1993; 342: 742.
27. Krupinski J., Kaluz J., Kumar P. et al. *Stroke* 1994; 25: 1794—1798.
28. Li Y., Chopp M., Jiang N. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 389—397.
29. Linnik M.D., Zobrist R.H., Hatfield M.D. *Stroke* 1993; 24: 2002—2009.
30. Magistretti P.J. Coupling of cerebral blood flow and metabolism. In: *Primer of Cerebrovascular Diseases* (Welch K.M.A., Caplan L.R., Reis D.J. eds.). San Diego, Academic Press 1997; 70—75.
31. Magistretti P.J., Pellerin L. The central role of astrocytes in brain energy metabolism. In: *Neuroscience, neurology and health*. WHO, Geneva. 1997; 53—64.
32. Marchetti B., Gallo F., Romeo C. et al. *Ann NY Acad Sci* 1996; 784: 209—216.
33. McGeer E.G., McGeer P.L. Neurodegeneration and the immune system. In: *Neurodegenerative Diseases* (Calne D.B. ed.). Philadelphia, Saunders, Harcourt, Brace & World 1994; 277—299.
34. McGeer P.L., Itagaki S., Togo H., McGeer E.G. *Neurosci Lett* 1987; 5: 195—200.
35. McGeer P.L., Kawamata T., Walker D.G. et al. *Glia* 1993; 7: 94—104.
36. Morioka T., Kalaria A.N., Streit W.J. *J Comp Neurol* 1993; 337: 123—132.
37. Pulsinelli W.A. *Am J Med* 1995; 2: 16—25.
38. Ransom B.R., Kettenmann H. *Neuroglia*. Oxford: Oxford University Press 1995; 1445.
39. Rinner W.A., Bauer J., Schmidts M. et al. *Glia* 1995; 14: 257—266.
40. Sadoul R., Dubois-Dauphin M., Fernandez J. et al. *Acta Neurol* 1996; 71: 419—424.
41. Sala L. Zur feineren Anatomie des grossen Hirns. *Zeitschr f. Anat. u. Physiol* 1981; 2: 18—45.
42. Schurr A., West C.A., Rigor B.M. *Science* 1988; 240: 1326—1328.
43. Tagaya M., Liu K.F., Caplan L.R. et al. *Stroke* 1997; 28: 1245—1254.
44. Thacopoulos M., Magistretti P.J. *J Neurosci* 1990; 10: 877—885.
45. Winfree A. *SFI Studies in the Sciences of Complexity*. Addison — Wesley, MA, Reading 1993; 207—298.
46. Wood P.L. *Life Sci* 1994; 55 (9): 566—568.
47. Zhang F., White J.G., Iadecola C. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 217—226.
48. Zhang R.L., Chopp M., Chen J. et al. *J Neural Sci* 1994; 123: 3—10.
49. Zhang R.L., Chopp M., Li Y. et al. *Neurology* 1994; 44: 1747—1751.

Глава 3

Изменения энергетического метаболизма, вызванные церебральной ишемией

Снижение перфузии ткани мозга сопровождается уменьшенной доставкой кислорода из кровеносного русла к клеткам, где он участвует в реакциях аэробного образования энергии, так как является субстратом терминального фермента митохондриальной дыхательной цепи — цитохром-с-оксидазы. Развивающееся вслед за этим гипоксическое состояние приводит собой сложный фазный процесс, в основе которого лежат прогрессирующие изменения свойств митохондриального ферментного комплекса [14].

Работами Л.Д. Лукьяновой с соавт. [8—24] установлен следующий последовательный этап развития гипоксических изменений в ткани мозга (рис. 3.1).

Первая (компенсаторная) стадия процесса связана с инактивацией никотинамидадениндинуклеотид ($NAD/NADH$)-зависимого пути окисления и сопутствующим усилением сукцинатоксидазного пути. Изменения функции дыхательной цепи начинаются на субстратном ее участке, в области митохондриального ферментного комплекса. Наиболее ранним ответом на гипоксическое воздействие является усиление интенсивности $NADH$ -зависимого пути окисления и его вклад в общее дыхание [3, 6, 7, 17, 29], чему соответствует увеличение максимальной активности ротенон-чувствительной $NADH$ -цитохром-с-оксидоредуктазы [1]. Связанное с этим усиление потока электронов от NAD -зависимых субстратов может быть причиной увеличения на раннем этапе гипоксии степени восстановленности цитохромоксидазы [14, 19], которая коррелирует также с повышением содержания ATP [23, 29] и усилением функциональной активности нейронов [17, 18]. Нарастание гипоксического состояния приводит вслед за активацией к подавлению функционирования митохондриального ферментного комплекса-I: снижаются интенсивность окисления NAD -зависимых субстратов и связанного с ним окислительного фосфорилирования, чувствительность дыхания к специфическим ингибиторам NAD -зависимого участка дыхательной цепи [9—12, 29, 40, 41]; восстанавливаются дыхательные переносчики митохондриального ферментного комплекса-I (пиридиннуклеотиды и флавины), что отражает нарушение переноса восстановительных эквивалентов через этот участок [6, 15, 19]. Следствием перечисленных изменений является потеря клеткой способности к окислению ряда энергетических субстратов даже при наличии их в среде. Таким образом, уже на ранней стадии гипоксии формируется «субстратный голод», особенно характерный для ишемических процессов [14]. Вещества, шунтирующие перенос электронов на участке $NADH$ -кофермент Q (CoQ), в этот период еще способны восстанавливать дыхание и редокс-состояние дыхательных переносчиков, что свидетельствует об отсутствии необратимого повреждения цитохромного участка [14, 26]. Исследованиями А.М. Дубченко [4] показано, что при снижении активности ротенон-чувст-

ния электротранспортной функции дыхательной цепи в области цитохромов $b-c$, что составляет суть *второй (некомпенсированной) стадии*. Несмотря на то что возможность образования ATP за счет функционирования митохондриального ферментного комплекса-IV еще сохраняется, активность цитохромоксидазы снижается, что приводит к прекращению (или резкому подавлению) поступления электронов от субстратного участка дыхательной цепи (как NAD -зависимого, так и сукцинатоксидазного) [6, 14, 23, 40, 41]. Вследствие этого отмечается уменьшение содержания ATP и появляется линейная зависимость дыхания и концентрации ATP от парциального давления кислорода.

Полная инактивация цитохромоксидазы наблюдается в условиях, близких к аноксическим, и отражает прекращение дыхания и окислительного фосфорилирования. Это *третья — терминальная — стадия гипоксии*.

Стадии гипоксии коррелируют с фазными изменениями содержания ATP и ведущих энергозависимых процессов в клетках [1]. Только на последних этапах кислородного голодания уровень энергетического дефицита становится достаточным для запуска основных механизмов, приводящих к нарушению жизнедеятельности и гибели клетки (см. разд. 4.1). Стремительное увеличение концентрации аденозинмонофосфата (ADP) сопровождается активацией протеин-киназной системы, что является дополнительным механизмом разрушения клеточных мембран [45].

Гликолиз не предотвращает снижения уровня ATP на поздних стадиях кислородного голодания [14]. Однако существует большое число экспериментальных данных, указывающих на то, что увеличение утилизации глюкозы астроцитами вследствие глутаматиндуцированной активации Na^+/K^+ -АТФазы [42, 49] приводит к ее метаболитам по гликолитическому пути до лактата, который, высвобождаясь, захватывается нейронами в пируват и используется как адекватный энергетический субстрат [50] (см. раздел 4.1.2).

Экспериментальные исследования [3, 31, 33] на моделях острой церебральной ишемии выявляют значимое уменьшение концентрации креатинфосфата, ATP и аденозиндифосфата (ADP) в ткани мозга наряду с увеличением содержания метаболического фосфата и лактата [43]. Установлено, что в течение первых нескольких минут после начала острой фокальной церебральной ишемии развивается дефицит макроэнергетических соединений (ATP , креатинфосфата) в ткани мозга [34, 35, 45, 47, 48]. У животных с меньшей чувствительностью к гипоксии достоверно снижается лишь содержание ATP и ADP , тогда как уровень креатинфосфата кратковременно изменяется в первые минуты ишемии и быстро восстанавливается до нормы. Градиент снижения уровня ATP в мозге низкоустойчивых к гипоксии животных при малых значениях парциального давления кислорода выражен гораздо сильнее, чем в мозге высокоустойчивых к гипоксии животных [9, 33].

Особенности энергетических изменений в ткани мозга зависят и от локализации ишемического процесса. В большинстве областей мозга реперфузия сопровождается полным или частичным возвращением энергетического метаболизма к нормальным показателям: увеличиваются концентрации ATP и креатинфосфата, снижается уровень лактата [33, 43]. В то же время в селективно чувствительных к ишемии нейронах (CA, зона гиппокампа, дорсолатеральный отдел стриатума) изменения энергетического метаболизма имеют двухфазный характер: вслед за кратковременной нормализацией отмечается его вторичное торможение [36, 51]. Развитие «постипиемической гипоксии» приводит к значительному нарушению

функций митохондрий [37, 39], уменьшению производства никотинамиддинуклеотидфосфата (*NADP*) в синапсосамах, что оказывает дополнительное воздействие на процессы необратимого повреждения ткани мозга [46].

Изучение корреляционной связи между параметрами ядерно-магнитно-резонансной спектроскопии ишемизированной ткани мозга, отражающими различные звенья энергетического метаболизма, выявило достоверно более высокий уровень суммарной силы связи при более низких значениях дисперсии элементов корреляционной матрицы [3]. Это позволило сделать вывод о более «жесткой» организации энергетической системы в условиях даже умеренно выраженной ишемии мозга. Неадекватная упорядоченность энергетической системы, возможно, является компенсаторной на начальных стадиях ишемии. Однако, по теории «хаоса» [27], более упорядоченные системы менее устойчивы, а в определенных условиях и более уязвимы. В связи с этим при длительно сохраняющейся ишемии меньшая пластичность энергетической системы становится одним из факторов, способствующих формированию инфаркта мозга и детерминирующей возможность выживания нейронов [31, 38].

Нейроны, подверженные тяжелой ишемии (мозговой кровотока менее 10–15 мл/100 г в 1 мин), а следовательно, и быстро исчезающим грубым нарушениям энергетического метаболизма, не могут поддерживать ионный градиент мембран за счет «обесточивания» Na^+/K^+ -АТФ-зона ферментной системы [30, 34]. Как отмечалось в главе 1, скорость развития аноксической деполяризации мембран нейронов зависит от глубины и длительности ишемии и ведет к некротической смерти клеток. Поэтому, энергетический дефицит является главенствующим механизмом гибели нейронов в области центрального инфаркта («ядерной» зоны инфаркта). В зоне пenumбры более «мягкая» ишемия инициирует развитие каскада биохимических преобразований, поддерживаемых реакцией «нож» и молекулярными последствиями ишемического процесса: активацией генов раннего реагирования с вторичной экспрессией генов, кодирующих цитокины, молекулы адгезии, другие провоспалительные и проапоптотические факторы, а также гены апоптоза (см. главу 7).

Энергетический дефицит и окислительный стресс являются триггерами каскада патофизиологических реакций, протекающих во всех основных клеточных путях ЦНС и приводящих к формированию инфаркта мозга по двум основным механизмам: некрозу и апоптозу.

Литература

1. Белоусова Т.В., Лемченко А.М., Лукьянова Л.Д. Бюл. эксперим. биол. и мед. 1992; 114 (12): 588–590.
2. Власова И.Г., Куца Г.М., Ламакин Ю.В. и др. Влияние гипоксии на нейроны различных структур мозга в условиях переживающих срезов. — В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция. Материалы Второй Всероссийской конференции. — М., 1999; 14.
3. Ганнушкина И.В., Баранчикова М.В., Семенова Н.А. и др. Журн. невропатол. и психиатр. 1989; 9: 3–6.
4. Дубченко А.М. Активность ферментов митохондрий и содержание метаболитов энергетического обмена в коре головного мозга крыс, обладающих различной чувствительностью к гипоксии. Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1976; 289.
5. Кондрашова М.Н. В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1989; 51–66.

6. Корнеев А.А. Исследование некоторых кислородозависимых процессов на изолированном окрашивающемся сердце при гипоксии: Дисс. канд. мед. наук. — М., 1985; 191.
7. Корнеев А.А., Лукьянова Л.Д. Патал физиол 1987; 3: 3—56.
8. Лукьянова Л.Д. В кн.: Использование моделей патологических состояний при поиске биологически активных препаратов. — М., 1983; 94—95.
9. Лукьянова Л.Д. В кн.: Фармакологическая коррекция кислородозависимых патологических процессов. — М., 1984; 67—68.
10. Лукьянова Л.Д. В кн.: Физиологические проблемы адаптации. — Тарту, 1984; 128—131.
11. Лукьянова Л.Д. В кн.: Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена. — Пушкино, 1987; 153—161.
12. Лукьянова Л.Д. В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1989; 5—44.
13. Лукьянова Л.Д. Итоги науки и техники. Сер. Фармакология и химиотерапевтические средства. — М., 1991; 27: 5—25.
14. Лукьянова Л.Д. Бюлл эксперим биол и мед 1997; 9: 244—254.
15. Лукьянова Л.Д., Коробков А.В. В кн.: Физиологические и клинические проблемы адаптации к гипоксии, гиподинамии, гипертермии. — М., 1991; 2—10.
16. Лукьянова Л.Д., Романова В.Е. В кн.: Свободные радикалы и антиоксиданты. — София, 1987; 85.
17. Лукьянова Л.Д., Власова И.Г. Бюлл эксперим биол и мед 1989; 10: 266—269.
18. Лукьянова Л.Д., Власова И.Г. Итоги науки и техники. Сер. Фармакология и химиотерапевтические средства. — М., 1991; 27: 16—176.
19. Лукьянова Л.Д., Бакуханов Б.С., Усалева А.Т. В кн.: Кислородозависимые процессы в клетке и ее функция. — М., 1982; 301.
20. Лукьянова Л.Д., Чернобаева Г.Н., Романова В.Е. Бюлл эксперим биол и мед 1989; 107 (4): 431—433.
21. Лукьянова Л.Д., Романова В.Е., Чернобаева Г.Н. Бюлл эксперим биол и мед 1991; 112 (7): 49—51.
22. Лукьянова Л.Д., Дубинко А.М., Бегусов В.И. Бюлл эксперим биол и мед 1994; 118: 576—581.
23. Лукьянова Л.Д., Дубинко А.М., Чернобаева Г.Н. Роль биоэнергетического обмена в формировании долгосрочных механизмов адаптации. — В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция. Материалы Второй Всероссийской конференции. — М., 1999; 92.
24. Лукьянова Л.Д., Усалева А.Т., Харламов С.В. и др. В кн.: Митохондриальные процессы во времени организации жизнедеятельности. — Пушкино 1978; 14—20.
25. Оксн Б.Б., Байсиль А.Т., Кондратова М.Н. — В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1988; 45—46.
26. Попов О.А., Зайцев С.В. В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1989; 155—159.
27. Прилепин И., Мендлер Я. В кн.: Порядок из хаоса: Пер с англ. — М., 1986.
28. Хазанов А.А., Ланина О.Н., Кобзева Е.А. и др. В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1989; 71—79.
29. Чернобаева Г.Н. Особенности регуляции окислительного метаболизма мозга животных с различной индивидуальной чувствительностью к кислородной недостаточности: Дисс. канд. биол. наук. — М., 1984; 211.
30. Arthur J., Symon L., Williamson N. M. et al. Stroke 1977; 8: 51—57.
31. Bruhl H., Frahm V., Gynzel M.L. et al. Magn Reson Med 1989; 9 (1): 126—131.
32. Chwang J.Y., Dolvenstre J.V., Mallis C.D. et al. N Engl J Med 1986; 314: 1670—1676.
33. Faden A.I. et al. J Pharm Exp Ther 1990; 255 (2): 451—458.
34. Hansen A.J. Reviews 1985; 65: 101—148.
35. Hansen E. Physiol Rev 1985; 65: 101—148.
36. Higuchi T., Fernandez E.J., Maudsley A.A. et al. Neurosurgery 1996; 38 (1): 121—129.

37. Ishii H., Stanimirovic D.B., Chang C.J. et al. *Neurochem Res* 1993; 18 (11): 1193—1201.
38. Lemasters J.J., Diguseppi J., Nieminen A.L. et al. *Nature* 1987; 325: 78—81.
39. Linn F., Paschen W., Ophoff B.G., Hassmann K.A. *Exp Neurol* 1987; 96 (2): 321—333.
40. Lukhyanova L.D. *Neurochem Int.* 1988; 13: 146.
41. Lukhyanova L.D. In: *Adaptation Biology and Medicine* (Shanna B.K., Takeda N., Ganguly N.K. eds.). New Delhi 1996; 1: 261—279.
42. Pellerin L., Magistretti P.J. *Proc National Acad Sci USA* 1994; 91: 10625—10629.
43. Putnam W.A., Sarokin A., Buchan A. *Prog Brain Res* 1993; 96 (-HD-): 125—135.
44. Rothman S.M., Olney J.M. *Ann Neurol* 1986; 19 (2): 105—111.
45. Scheinberg P. *Neurology* 1991; 41: 1867—1873.
46. Shirahashi K., Sharp F.R., Simon R.P. *J Cereb Flow Metab* 1989; 9: 765—773.
47. Sieja B.K. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522: 638—661.
48. Sieja B.K., Baughman F. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9: 127—140.
49. Takahashi S., Driscoll B.F., Law M.J., Sokoloff L. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1995; 92: 4616—4620.
50. Tsacopoulos M., Magistretti P.J. *J Neurosci* 1996; 16: 877—885.
51. Walsh F.A., O'Connor M.J., Marcy V.R. et al. *Stroke* 1982; 1: 234—241.

Глава 4

Глутамат-кальциевый каскад

В основе формирования очагового некроза на фоне ишемии мозга лежат быстрые реакции глутамат-кальциевого каскада, разворачивающиеся в первые минуты и часы после сосудистого инцидента и являющиеся основным содержанием периода «терапевтического окна» [54, 154, 155, 176, 177].

В развитии глутамат-кальциевого каскада выделяют три основных этапа: индукции (запуск), амплификации (усиление повреждения этого потенциала) и экспрессии (конечные реакции каскада, непосредственно приводящие к гибели клетки) (рис. 4.1; схема 4.1).

4.1. Этап индукции: нарушение ионного транспорта, глутаматная эксайтотоксичность

Снижение содержания ATP в ишемизированной зоне и компенсаторная активация анаэробного гликолиза и окислительная гипоксия вызывают повышение уровня неорганического фосфата, усиление образования лактата и ионов H^+ , что обуславливает формирование метаболического ацидоза (см. главу 5). Наряду с этим расщепление нейрональной ATP приводит к «обесточиванию» Na^+/K^+ -АТФазы и кальциевой насосной системы, которая управляет энергозависимым ионным транспортом [53, 100]. *Нарушение активного ионного транспорта* обуславливает пассивный отток ионов K^+ из клеток, приток ионов Ca^{2+} , что приводит к деполяризации клеточных мембран. Ионы H^+ продолжают накапливаться внутриклеточно. Наряду с первичным пассивным притоком ионов Ca^{2+} в клетки через потенциал-зависимые (потенциал-регулируемые) Ca^{2+} -каналы нарушается секвестрация кальция в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме в связи с дефицитом кислорода и ATP [46, 242]. Кроме того, поскольку ионы H^+ и Ca^{2+} могут конкурировать за одни и те же места связывания, накопление кислых валентностей внутри клетки может вызывать высвобождение значительного количества ионов Ca^{2+} из органелл [77, 131, 215, 216]. Внутриклеточное накопление ионов Ca^{2+} при мозговой ишемии создает перегрузку митохондрий с разобщением окислительного фосфорилирования и усилением катаболических процессов [61, 180, 181, 202]. Это сопровождается переходом ионов Ca^{2+} в активную форму посредством соединения с внутриклеточным рецептором кальмодулином, что ведет к активации кальмодулин-зависимых протеинкиназ, липаз и эндонуклеаз, фрагментации ДНК, гибели клетки [33, 180].

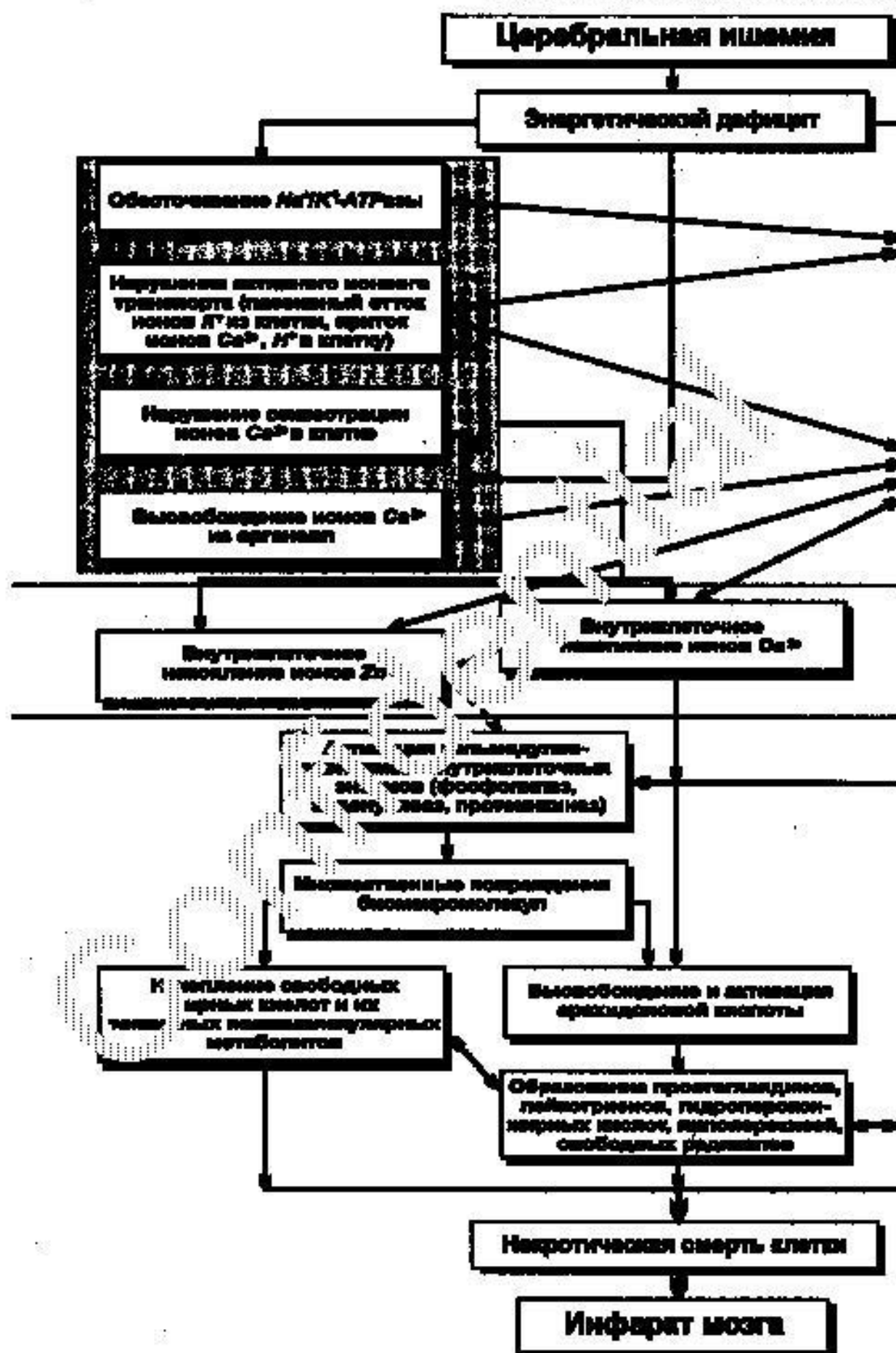
Таким образом, уже на самых начальных этапах патофизиологического каскада, «запущенного» дефицитом макроэнергии, начинается процесс *аккумуляции ионного кальция*, являющийся одним из ключевых механизмов деструктивных процессов, лежащих в основе некротической смерти нейрона [11, 32, 160, 167, 211, 213].

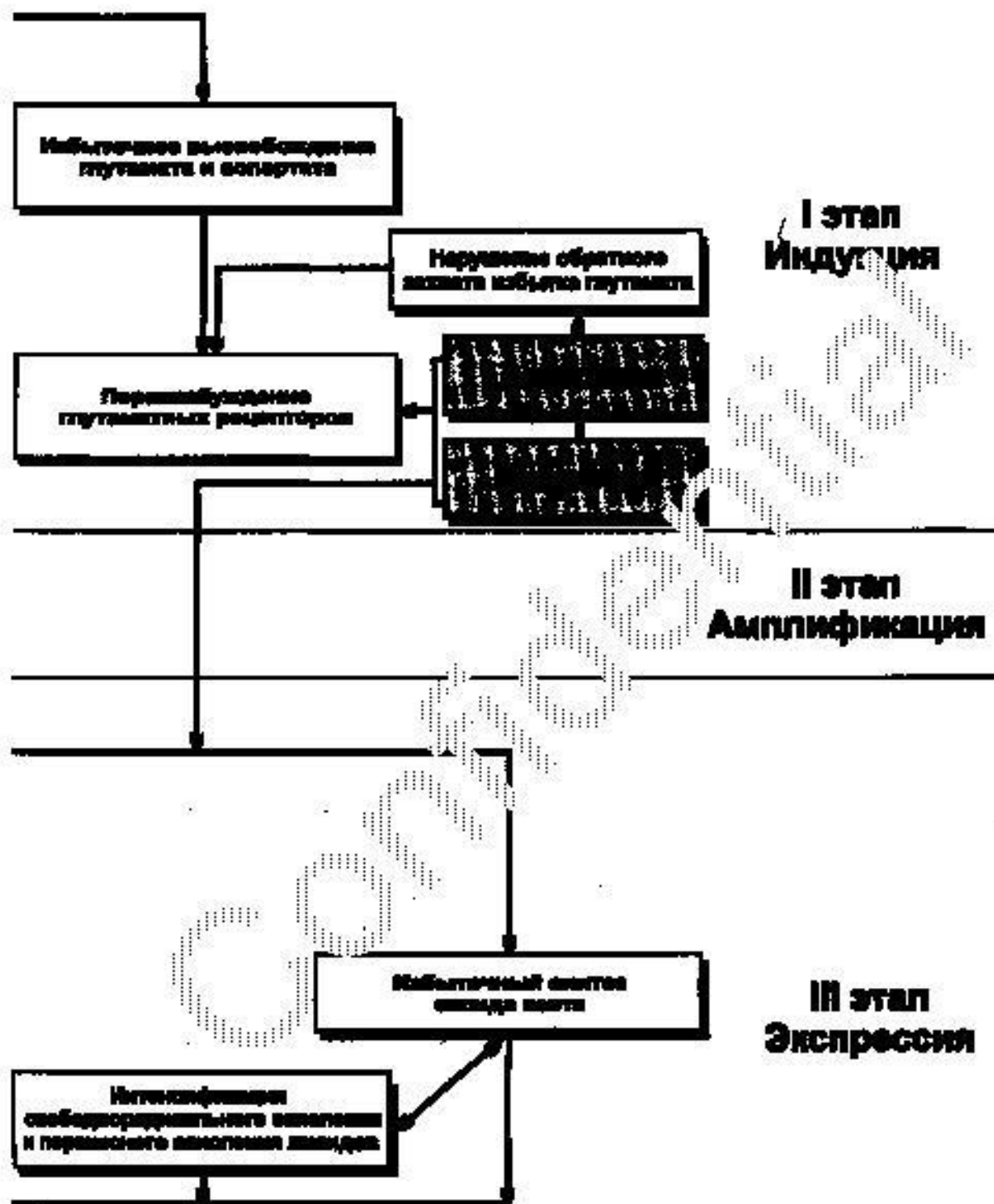


Рис. 4.1. Этапы глутамат-кальциевого каскада.

В первоначальной формулировке гипотезы о некротической гибели нейронов [211] указывалось, что ионы Ca^{2+} поступают в клетки через потенциал-зависимые кальциевые каналы, которые в большом количестве имеются в апикальных дендритах нейронов. Позже оказалось, что блокада этих каналов дигидропиридиновыми антагонистами не обеспечивает заметной защиты от ишемии, а также не блокирует приток ионов Ca^{2+} в нейроны

Схема 4.1. Основные механизмы





[91, 202, 213]. Исследования A.B. MacDermott с соавт. [142] показали, что более важным путем поступления кальция в клетку являются агонист-зависимые кальциевые каналы, особенно те, которые контролируются рецепторами, активируемыми возбуждающими аминокислотными нейротрансмиттерами — глутаматом и аспартатом.

Впервые J.W.E. Olney [176] выдвинул гипотезу «эксайтотоксической смерти нейронов», установив в экспериментальных исследованиях, что возбуждающим аминокислотным нейротрансмиттерам (глутамату и, возможно, аспартату) свойственна цитотоксичность. При их взаимодействии с перевозбужденными постсинаптическими рецепторами развиваются дендросоматические поражения без изменений проводящей части нервной клетки. Условия, создающие такое перевозбуждение, характеризуются повышенным выделением и/или уменьшенным повторным захватом переносчика. По мнению автора, теория «эксайтотоксичности» могла объяснить гибель нейронов при различных заболеваниях головного мозга, в том числе и при ишемическом инсульте.

С начала 80-х годов теория «эксайтотоксичности» получила развитие в ряде экспериментальных работ, подтверждающих исключительную роль аминокислотных нейротрансмиттеров в патогенезе ишемического инсульта [76, 92, 154, 172]. Глутамат-кальциевый каскад проводится в действие избыточным высвобождением возбуждающих нейротрансмиттеров глутамата и аспартата из окончаний ишемизированных нейронов в межклеточное пространство [97, 103]. Выброс нейротрансмиттерных аминокислот наблюдается в течение 10–30 мин после начала острой фокальной ишемии вследствие нарушений активного ионного транспорта и деполяризации пресинаптических мембран; ионные концентрации возвращаются к исходным уровням через 30–40 мин после восстановления кровотока [1, 36, 72, 73, 77].

Исследования T.P. Obrenovitch с соавт. [173] показали, что значительное высвобождение глутамата происходит лишь при достаточно тяжелой церебральной ишемии — в зоне ишемического ядра (центрального инфаркта). При этом повышение уровня глутамата во внеклеточном пространстве является двухфазным процессом. В время первой фазы (через 10 мин после окклюзии средней мозговой артерии) содержание глутамата возрастает до 30 ммоль, однако через несколько минут начинает прогрессивно увеличиваться, достигая максимума (80–85 ммоль) через 55–60 мин, и остается на этом уровне более 3 ч [233]. Ранний компонент кинетики глутамата не определяется при отсутствии ионов Ca^{2+} в среде [233], что свидетельствует о возникновении высвобождения нейротрансмиттера, а следовательно, и достаточном уровне оставшегося АТФ для поддержания экзоцитозного освобождения. Вторая фаза оказалась относительно независимой от концентрации ионов Ca^{2+} . Это позволяет предположить участие нарушенный обратного захвата глутамата в повышении его внеклеточного уровня.

4.1.1. Содержание нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом

Роль избыточного высвобождения глутамата и аспартата в патогенезе ишемического инсульта подтверждена в работах, проведенных в неврологических клиниках Российского государственного медицинского университета совместно с НИИ фармакологии РАМН [5, 20, 93–95].

Обследовано 110 больных (50 мужчин и 60 женщин, средний возраст 63,2 года), поступивших в нейрореанимационные отделения в 1-е сутки после развития ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии. Ведущим этиологическим фактором заболевания явился атеросклероз (87 %) и его сочетание с гипертонической болезнью (62 %) и сахарным диабетом (8 %). У 87 (79,1 %) больных инсульт имел атеротромботический характер, у 20 (18,2 %) — кардиоэмболический, у 3 (2,7 %) — гемодинамический на фоне острого инфаркта миокарда. Больных с микроциркуляторными (лакунарными) инсультами не было.

С момента поступления в клинику больным проводилось комплексное максимально унифицированное лечение, направленное на коррекцию нарушений дыхания и сердечно-сосудистой системы, кислотно-основного и водно-электролитного баланса (по показаниям), борьбу с отеком мозга (по показаниям), улучшение перфузии ткани мозга с применением гемодилюции, антиагрегантов, ангиопротекторов, при необходимости проводили антикоагулянтную терапию (под контролем лабораторных данных). Нейропротективные препараты для лечения больных не использовали. Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологических нарушений применяли три взаимобогащающие клинические шкалы: Скандинавскую [201], Оргогозо [179] и оригинальную [202].

Содержание нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости определяли на 1-е и 3-и сутки заболевания с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией по методике Pearson [185].

Цереброспинальную жидкость растворяли в соотношении 1:20 0,1 *N* раствором HClO_4 , затем центрифугировали в течение 1 мин при скорости 10 000 об/мин. К 50 мкл супернатанта добавляли 0,02 мг/мл раствора стандарта *L*-гомосерина и 0,2 мкл NaOH и 25 мкл орфальальдегид-содержащего реактива в 0,1 *M* боратном буфере (pH 9,5) в течение 20 мин при температуре 20 °C для дериватизации аминокислот. Полученные образцы наносили на колонку с обратной фазой (3×150 мм, *C*-18) и обрабатывали 0,01 *M* фосфатным буфером pH 5,6, содержащим 0,05 ммоль *EDTA* и 5 % метанола. Смесь *L*-гомосерина (0,02 мг/мл) в 0,1 *M* боратном буфере (pH 9,5) использовали как внутренний стандарт. Нормы потока составляла 1 мл/мин с электрохимическим детектированием глутамата и глицина при помощи углеродистого электрода *LC-8B* («*Electrochemical Systems Inc.*», США). Все используемые реактивы были произведены фирмами «*Sigma*» (США) и «*Fluka*» (Швейцария). Концентрацию аминокислот в цереброспинальной жидкости в микромолях на 1 л рассчитывали при помощи калибровочной кривой: S аминокислота / S_0 (S аминокислота — площадь пика аминокислотного пика и S_0 — площадь внутреннего стандартного пика в хроматограмме).

Показатели сравнивали с нормативными, полученными при проведении перидуральной анестезии в контрольной группе, которая состояла из 27 человек (13 мужчин и 14 женщин, средний возраст — 58,8 года) с ортопедической патологией без поражения ЦНС, системных заболеваний и нарушений терморегуляции. Учитывая данные литературы о вариабельности уровней нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости, для минимизации технических погрешностей контрольные пробы дублировали и включали в различные партии исследования совместно с пробами больных в остром периоде ишемического инсульта. Содержание аминокислот в контрольной группе было следующим: аспартата $1,22 \pm 0,21$ ммоль/л; глутамата $4,48 \pm 0,74$; глицина $15,15 \pm 1,4$; ГАМК $0,97 \pm 0,34$ ммоль/л. Достоверных различий показателей в контрольной группе между мужчинами и женщинами выявлено не было ($p > 0,05$).

Статистическая обработка материала включала применение непараметрических методов (*U*-тест Манна—Уитни, *F*-тест Фишера, γ -коэффициент ранговой корреляции Спирмена). Различия между показателями признавались существенными при 5 % уровне во всех проведенных сравнениях.

Сравнительный анализ концентраций нейротрансмиттерных аминокислот выявлял их достоверное повышение в цереброспинальной жидкости у больных в остром периоде ишемического инсульта ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (рис. 4.2). С учетом концепции «терапевтического окна» особый интерес представляло изучение динамики концентраций нейротрансмиттерных аминокислот в течение 1-х суток заболевания. Было установлено, что уровни возбуждающих аминокислот (аспартата и глутамата) лавинообразно нарастают уже в первые 6 ч: аспартата в 65 раз ($p < 0,004$), глутамата в 8 раз ($p < 0,024$) по сравнению с контролем и положительно коррелируют между собой ($r = 0,4$; $p < 0,02$). При этом концентрации тормозных нейротрансмиттерных аминокислот (ГАМК и глицин) в данный период времени сохранялись на уровне контроля. Пик увеличения концентраций тормозных нейротрансмиттеров был сдвинут на более поздний период (18—24 ч): уровень ГАМК повышался в 1,5 раза ($p < 0,05$), глицина — в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об отсроченном включении компенсаторных механизмов торможения. Известно, что в нормальных условиях существует тонкое равновесие между активностью глутаматергической и ГАМК-ергической нейротрансмиттерных систем [154, 192, 211]. Выявленное изменение в динамике изменений уровня возбуждающих и тормозных аминокислот свидетельствует о том, что в развитии острой церебральной ишемии принимает участие не только феномен «зайтотоксичности», но и формирование дисбаланса между возбуждающими и тормозными механизмами с признаками недостаточности торможения в первые часы инсульта (период «терапевтического окна») [20].

При оценке интегративных показателей концентраций аминокислот в 1-е сутки развития инсульта обнаружены достоверные положительные корреляции между уровнями глутамата и аспартата ($r = 0,4$; $p < 0,02$), а также глутамата и глицина ($r = 0,56$; $p < 0,00009$). Это, возможно, отражает двойственную роль глутамата при ишемии: наряду с тормозным нейротрансмиттерным действием, участвуя в процессах активации новообразованных глутаматных *NMDA*-рецепторов в качестве их коагониста [5, 93]. Сравнительный анализ уровней аминокислот в 1-е сутки инсульта в зависимости от тяжести состояния больных выявил значимое преобладание уровня глутамата ($p < 0,02—0,008$) и глицина ($p < 0,0—0,04$) в группах тяжелых (суммарный клинический балл по шкале Оргогозо и оригинальной шкале составил 2—39 и 30—35 соответственно) и крайне тяжелых (суммарный клинический балл менее 25 и 30 по применяемым шкалам) больных по сравнению с больными средней тяжести (см. рис. 4.2). Достоверных различий между интегративными показателями этих аминокислот у больных с тяжелым и крайне тяжелым состоянием установлено не было ($p > 0,05$). Концентрация ГАМК обнаруживала обратную корреляцию с исходной тяжестью состояния больных: была достоверно выше у больных средней тяжести по сравнению с тяжелыми ($p < 0,02$) и крайне тяжелыми ($p < 0,00005$) (рис. 4.3).

Важно отметить, что различия в концентрациях нейротрансмиттерных аминокислот у больных с разными патогенетическими вариантами инсульта отсутствовали ($p > 0,05$).

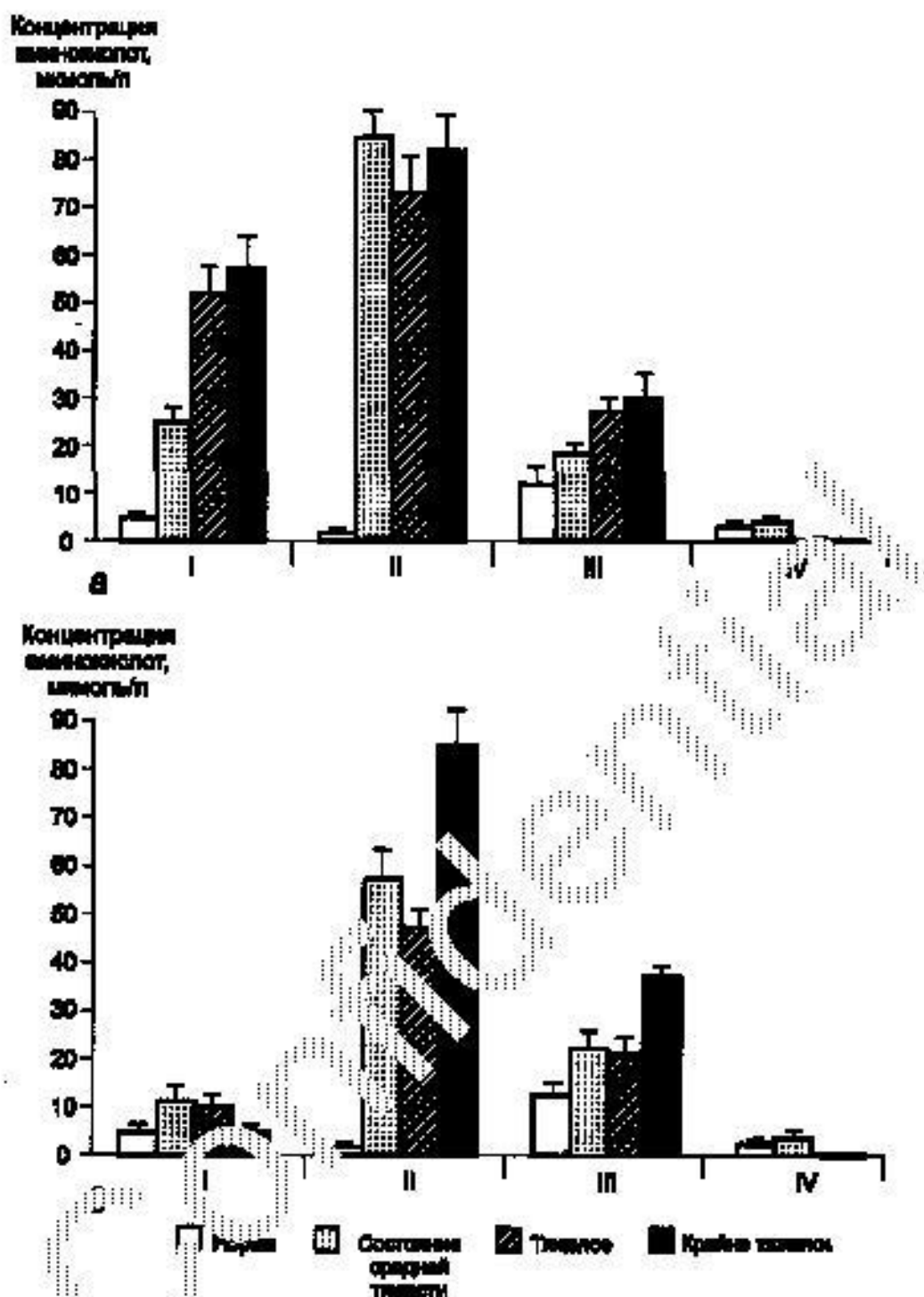


Рис. 4.2. Концентрация нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — 1-е сутки; б — 3-и сутки. I — глутамат, II — аспартат, III — глицин; IV — ГАМК.

Установлено, что динамика концентраций нейротрансмиттерных аминокислот к 3-м суткам заболевания также зависит от тяжести ишемического инсульта и имеет прогностическое значение.

Так, у больных средней тяжести максимальные концентрации глутамата регистрировались в первые 6 ч инсульта, в 18 раз превышая контрольные ($p < 0,05$), а к 12 ч уровень глутамата снижался в 3 раза ($p < 0,05$), далее до 3-х

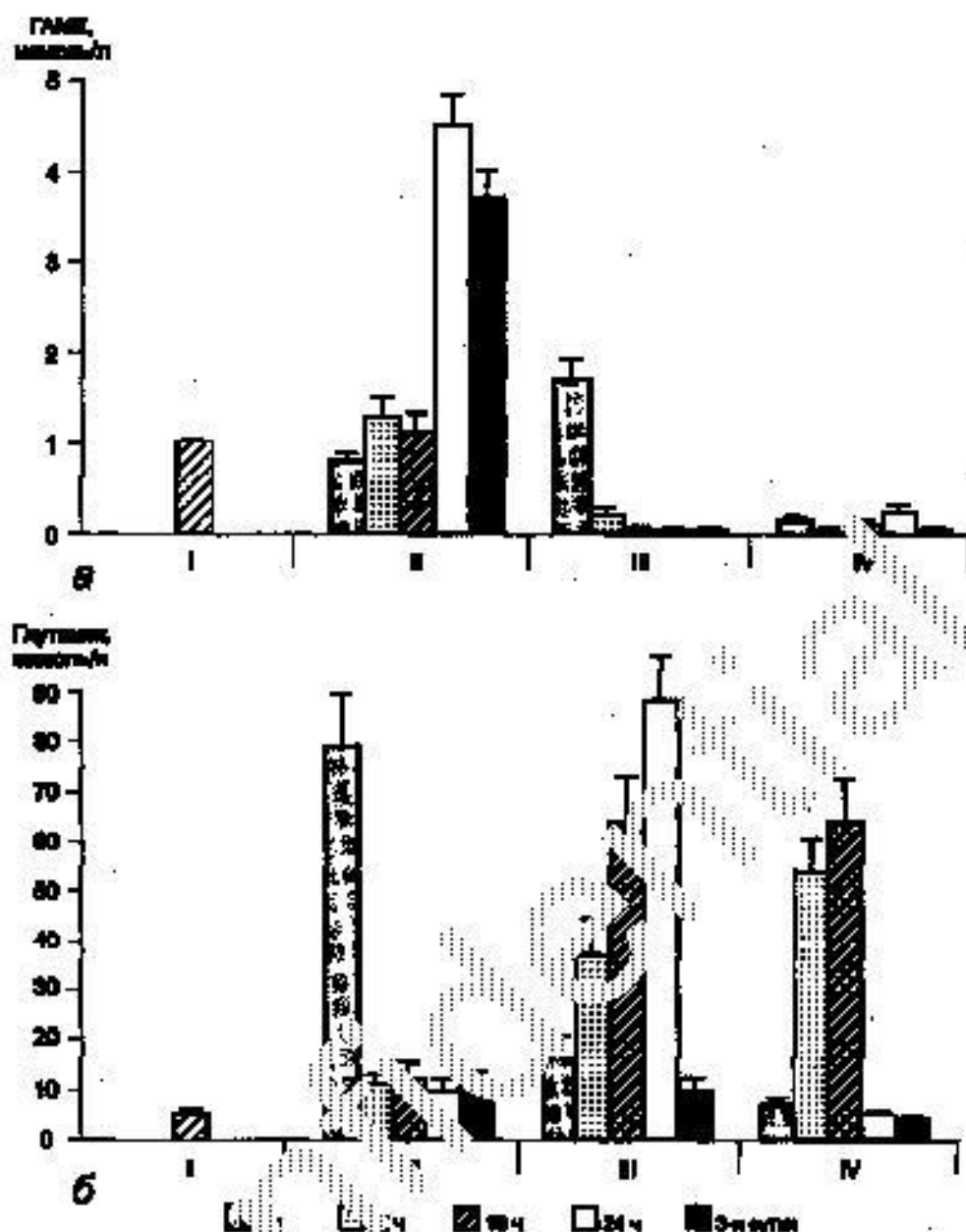


Рис. 4.2. Динамика концентрации ГАМК (а) и глутамата (б) в цереброспинальной жидкости больных с вентриальным ишемическим инсультом.

I — норма; II — острое; III — среднетяжелое; IV — тяжелое; V — крайне тяжелое.

суток при этом соответствовал 12-часовому, т.е. был умеренно повышенным (см. рис. 4.3). У тяжелобольных определялось прогрессирующее нарастание уровня глутамата на протяжении всех 1-х суток заболевания (через 24 ч он был в 21 раз выше, чем в контроле), и лишь к 3-м суткам наблюдалась тенденция к снижению его концентрации до умеренно повышенной, близкой к определяемой у больных с состоянием средней тяжести ($p > 0,05$). Интересно отметить, что у больных, находящихся в крайне тяжелом состоянии, прогрессирующее нарастание концентрации глутамата регистрировалось только до 12—18 ч, затем уровень его резко снижался, а в ряде случаев глутамат переставал определяться в цереброспинальной жидкости, что сохранялось до 3-х суток заболевания (см. рис. 4.3). Феномен ранней «нормализации» уровня глутамата в цереброспинальной жидкости при наиболее

тяжелых формах ишемического инсульта может быть связан с нарушением энергезависимого внутриклеточного синтеза глутамата из продуктов цикла Кребса вследствие нарастающего энергетического дефицита. Это предположение согласуется с экспериментальными данными о снижении внутриклеточных концентраций глутамата при нарастающей глобальной и фокальной ишемии мозга [77].

Концентрация аспартата у больных с состоянием средней тяжести и тяжелым прогрессивно увеличивалась к концу 1-х суток инсульта; к 3-м суткам отмечалась тенденция к ее снижению, однако показатели оставались повышенными. При крайне тяжелом состоянии больных содержание аспартата в цереброспинальной жидкости продолжало нарастать в течение первых дней заболевания и было максимальным на 3-и сутки.

Уровень ГАМК у больных в состоянии средней тяжести начинал повышаться через 12—18 ч с момента развития инсульта и достоверно нарастал к концу 1-х суток (через 24 ч он был в 4,7 раза выше, чем в контроле; $p < 0,05$), что отражало последовательную активацию тормозных защитных механизмов (см. рис. 4.3). На 3-и сутки у больных средней тяжести отмечались высокие концентрации ГАМК (в 3,7 раза превышающие контрольные; $p < 0,05$). Это, по-видимому, свидетельствует о значимости данного вещества для защиты мозга на протяжении всего периода формирования и разрешения изменений. У тяжелобольных уровень ГАМК повышался лишь в первые 6 ч от начала инсульта (в 1,8 раза по сравнению с контролем; $p < 0,05$), к 12 ч он резко снижался (в 9 раз по сравнению с 6-часовым уровнем; в 5 раз по сравнению с контрольным), а впоследствии ГАМК в цереброспинальной жидкости не определялась (концентрации были ниже разрешающей способности метода). В группе крайне тяжелых больных с первых часов заболевания и до 3-х суток регистрировалось снижение концентрации ГАМК по сравнению с контролем, что отражало недостаточность защитных механизмов торможения. Недостаточность тормозных ГАМКергических защитных механизмов на фоне повышенного выброса возбуждающих аминокислот определяла особую тяжесть состояния у этого контингента больных.

Установленная в клинических условиях значимость дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами и недостаточности естественных тормозных механизмов в патогенезе ишемического инсульта находит подтверждение в экспериментальных исследованиях [74, 77, 81, 168]. На модели острой церебральной ишемии у животных было показано, что вытеснение глутамата и аспартата в экстрацеллюлярное пространство сопровождается значительным снижением их содержания внутри нейронов. Вместе с тем уровень ГАМК внутри нейронов существенно повышается несмотря на массовое поступление ГАМК в экстрацеллюлярное пространство. Причиной внутриклеточного накопления ГАМК при острой ишемии являются активация в условиях ацидоза фермента глутаматдекарбоксилазы, синтезирующей ГАМК, и торможение ГАМК-трансаминазы — фермента деградации ГАМК. Таким образом, в экспериментальных работах была продемонстрирована компенсаторная роль дополнительного синтеза и ограниченного разрушения естественного тормозного нейротрансмиттера ГАМК, имеющего защитное значение.

В отличие от ГАМК концентрация другого тормозного нейротрансмиттера — глицина была повышена у всех обследованных больных в первые 12 ч с момента развития инсульта, особенно при тяжелом и крайне тяжелом их состоянии (в 1,5—2 раза по сравнению с контролем; $p < 0,05$). Повышенные концентрации глицина сохранялись на протяжении первых 3 сут независимо от исходной тяжести заболевания (см. рис. 4.2).

Различия в реакциях двух тормозных нейротрансмиттерных систем (ГАМК- и глицинергической) на острую церебральную ишемию, возможно, связаны с различиями топографического распределения их рецепторных зон в тканях мозга. Морфологические и радионуклидные исследования выявили преимущественную локализацию ГАМК рецепторов в структурах полушарий большого мозга (височная и лобная кора, гиппокамп, миндалевидные и гипоталамические ядра) и среднего мозга (черная субстанция, серое вещество вокруг водопровода), тогда как глициновые рецепторы максимально представлены в структурах ствола мозга и спинного мозга [99, 192]. Включение в исследование лишь больных с полушарной локализацией инсульта при отсутствии у них значимых морфологических изменений в стволово-мозжечковых структурах могло обусловить преобладание у них дисфункции ГАМКергической нейротрансмиттерной системы.

Ретроспективный анализ динамики биохимических показателей в зависимости от характера течения заболевания и его исхода позволил выявить наиболее значимые прогностические критерии. Установлено, что в 1-е сутки после развития инсульта прогностическую значимость имеют степень повышения концентрации глутамата и глицина: более высокие их уровни позволяют прогнозировать более тяжелое, прогрессивно текущее заболевание (различия с группой регрессирующего инсульта достоверны: $p < 0,002$ по уровню глутамата, $p < 0,001$ по уровню глицина), также формирование более обширного очага инфаркта, оцениваемого морфометрически с помощью компьютерной томографии (КТ) и МРТ головного мозга, к концу острейшего периода инсульта (на 5—7-е сутки) [57].

Наиболее надежным благоприятным прогностическим критерием в 1-е сутки явилось раннее увеличение концентрации ГАМК, которое предшествует регрессирующему течению инсульта и скорейшему восстановлению нарушенных функций. Напротив, быстрое и значительное снижение концентрации ГАМК или невозможность его определения позволяют прогнозировать неблагоприятное течение инсульта со значительной инвалидизацией больного.

Важную прогностическую значимость имела динамика уровней аминокислот к 3-м суткам инсульта. Степень прироста концентрации глицина в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам обнаруживала тесную обратную корреляцию с приростом суммарного клинического балла к 5-м ($r = -0,56$; $p < 0,009$) и к 21-м ($r = -0,51$; $p < 0,03$) суткам заболевания. Наиболее значимыми неблагоприятными прогностическими признаками являлись также невозможность определения глутамата и ГАМК в цереброспинальной жидкости на 1-и сутки инсульта и продолжающееся увеличение концентрации аспартата (обратная корреляция с приростом суммарного клинического балла к концу острейшего периода инсульта: $r = -0,45$; $p < 0,048$; прямая корреляция с частотой летального исхода: $r = 0,65$; $p < 0,02$).

Таким образом, клинико-биохимические исследования [5, 20, 93—95] подтвердили роль феномена «эксайтотоксичности» в механизмах развития острой фокальной церебральной ишемии, формировании инфаркта мозга. Установлен факт достоверного увеличения концентраций возбуждающих аминоксидергических нейротрансмиттеров (глутамата и аспартата) в цереброспинальной жидкости больных в первые часы и дни острого полушарного ишемического инсульта независимо от сосудистого варианта его развития (атеротромбоз, кардиоэмболия или угнетение системной гемодинамики). Степень и длительность этого увеличения имеют прогностическое значение для определения особенностей течения и исхода инсульта. Показано, что наряду с «эксайтотоксичностью» в патогенезе ишемическо-

го инсульта может играть роль дефицит защитных тормозных механизмов, прежде всего ГАМКергических, с учетом полушарной локализации ишемии. Степень дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами, оцениваемая по уровню соответствующих аминокислот в цереброспинальной жидкости, во многом определяет тяжесть клинических проявлений ишемического инсульта и возможности восстановительных процессов. Установленные достоверные биохимические критерии объективизации тяжести острой фокальной ишемии мозга и прогнозирования течения и исходов инсульта могут быть использованы в клинических условиях.

Важно отметить, что уровни аминокислот, не обладающих нейротрансмиттерными свойствами, значимо не меняются на фоне ишемии [77].

4.1.2. Регуляция концентрации возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот в синаптической щели

В последние годы показано, что важную роль в энергетиче- кой метаболизме мозга и функционировании глутаматной системы играют глиальные клетки, особенно астроциты [26, 145, 200], не являющиеся пассивными элементами нервной системы, а участвующие в обеспечении нейронов энергетическими субстратами в ответ на увеличение синаптической активности. Астроцитарные отростки расположены вокруг синаптических контактов, что позволяет им улавливать увеличение синаптической концентрации нейротрансмиттеров (рис. 4.4). Хорош изучена функция астроцитов в связывании глутамата [30]. Действие глутамата на постсинаптических нейронах быстро определяется анионной связывающей системой, расположенной на астроцитарных отростках, которые обволакивают синаптический контакт [198]. Перенос глутамата из синаптической щели опосредуется через специфические транспортные системы, две из которых глиально специфичны (переносчики *GLU⁻* и *GLAST*). Третья транспортная система (*EAAC-1*), находящаяся исключительно в нейронах, никогда не вовлекается в перенос синаптически свободного глутамата [198]. Переход глутамата в астроциты происходит благодаря электрохимическому градиенту ионов Na^+ .

С помощью экспериментальных и визуализирующих методов исследования было доказано, что при кортикальной активации, вызванной глутаматом, происходит локальное увеличение утилизации глюкозы в астроцитах [29, 145, 144]. Этот эффект не связан с рецепторно-медиаторным механизмом, так как не может быть предотвращен или имитирован антагонистами и агонистами глутаматных рецепторов [186]. По мнению L. Pelletier, P.J. Magistretti [186], S. Takahashi с соавт. [222], ключевую роль в его реализации играет активация Na^+/K^+ -АТФазы в результате массового потока ионов Na^+ в клетку. Астроциты утилизируют добавочный объем глюкозы по гликолитическому пути до лактата, который, высвобождаясь, трансформируется нейронами в пируват, вступает в цикл трикарбоновых кислот и служит энергетическим топливом. Для связывания одной молекулы глутамата необходимо 3 иона Na^+ . В результате астроцитом поглощается одна молекула глюкозы, а в процессе гликолиза вырабатываются 2 молекулы АТФ и высвобождаются 2 молекулы лактата. Одна молекула АТФ затрачивается на «выключение» Na^+/K^+ -насоса, в то время как другая обеспечивает превращение глутамата в глутамин при помощи глутаминсинтазы.

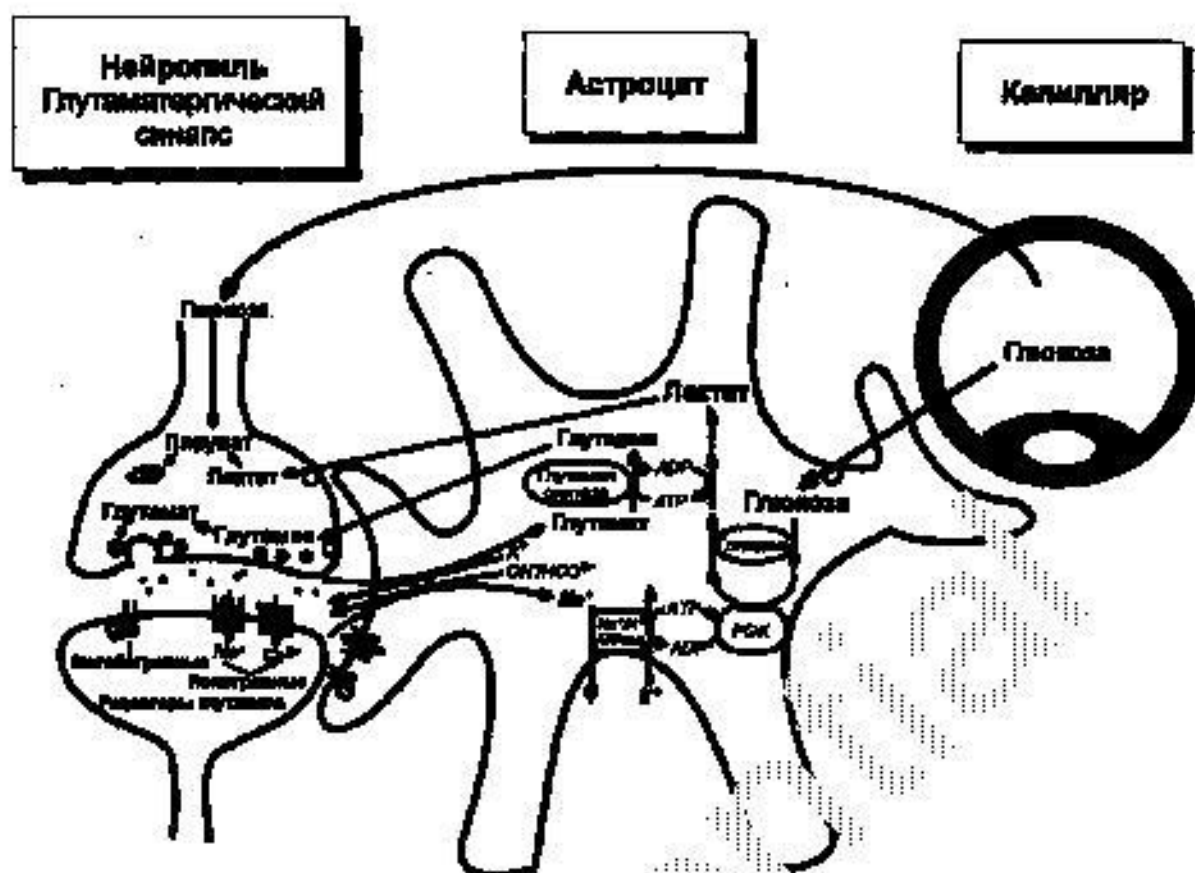


Рис. 4.4. Цитопатическое взаимодействие между интрапаренхимальным капилляром, астроцитом и нейроном и участие гликолиза в нейрональной активности и утилизации глюкозы [модифицировано из P.J. Magkathetti, L. Pelerin, 1997].

Отростки астроцитов окружают синапс и обволакивают синапс. Рецепторы и места связывания для нейротрансмиттеров находятся на астроцитах. Это позволяет астроцитам улавливать уровень синаптической активности и регулировать потребление и метаболизм энергетических субстратов глюкозы и кислорода. Действие глутамата определяется глутамат-связывающей системой, расположенной первично в астроцитах. Астроциты удаляют избыток глутамата из синаптической щели, трансформируя его в глутамин, который затем возвращается в нейроны. Глутамат ко-транспортируется вместе с ионом Na^+ , что приводит к увеличению концентрации Na^+ внутри клеток и вызывает активацию натрий-калиевой АТФазы, что в свою очередь стимулирует гликолиз. Лактат производится в результате глутамат-индуцированного гликолиза в астроцитах, высвобождается и связывается нейронами, обеспечивая тем самым адекватный объем энергетических субстратов. Прямое потребление глюкозы нейронами в начальных условиях показано дугообразной стрелкой сверху.

Существует большое число экспериментальных данных, указывающих на то, что лактат может быть использован в качестве энергетического топлива нейронами [34, 206, 232]. Микроанализное исследование у грызунов *in vivo* и ^1H -магнитно-резонансный спектроскопический (МРС) анализ позволили документально подтвердить увеличение концентрации лактата при физиологической глутамат-активации [85, 86, 189]. Доказана возможность выборочного распределения изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) среди лактат-продуцирующих и лактат-потребляющих клеток. Так, в гиппокампе и коре головного мозга человека иммунореактивность к изоферменту ЛДГ₅, связанному с тканями, в больших количествах продуцирующим лактат, ограничивается популяцией астроцитов, в то время как нейроны

реагируют только на антитела к ЛДГ-изоферменту, присутствующему в лактат-потребляющих тканях [34]. Эти данные подтверждают гипотезу о существовании глутамат-индуцированного гликолиза, «астроцитарно-нейронального лактатного челнока» (см. рис. 4.4).

С помощью ПЭТ-исследования головного мозга лятей было установлено отсутствие прямой связи между утилизацией глюкозы и потреблением кислорода тканью мозга [84]. Показано, что эффективность механизмов синапсосомального поглощения глутамата также определяется прежде всего концентрацией глюкозы, а не уровнем гипоксии [188, 191].

Таким образом, важной целью функционального сотрудничества между нейронами и астроцитами является регулирование адекватного энергетического потока при активации нейронов. Глутамат-индуцированное потребление глюкозы и выработка лактата в астроцитах — простой и прямой механизм обеспечения жизнедеятельности нейронов.

Дополнительное влияние на экстрацеллюлярные уровни аспартата и глутамата, а следовательно, и на выраженность «эксайтотоксичности» оказывают температура и pH в ишемизированной зоне мозга, концентрации внеклеточных ионов K^+ и Na^+ . Повышение внеклеточного уровня глутамата при острой фокальной церебральной ишемии, по экспериментальным данным [163, 221], прямо пропорционально температуре очага ишемии. Одним из основных эффектов умеренной гипотермии является достоверное снижение уровня возбуждающих аминокислотных нейротрансмиттеров в зоне пенумбры, окружающей фокальное инфаркты, что предотвращает расширение области повреждения мозга.

Метаболический ацидоз, сопровождающий реакцию глутамат-кальциевого каскада, тормозит обратное поглощение глутамата из синаптической щели. Снижение pH до 5,8 почти полностью останавливает астроцитарные транспортные системы глутамата [190, 220].

Согласно экспериментальным данным [171], нарастание уровня внеклеточных ионов K^+ при мозговой ишемии до 15–60 мкмоль/л усиливает распространение нейронального возбуждения. Н. Hirota с соавт. [108], В. Zablocka и К. Dampaska-Luk [145] отмечают, что резкое увеличение концентрации ионов K^+ в экстрацеллюлярном пространстве приводит к повышенному выбросу глутамата и аспартата в синаптическую щель с одновременным подавлением их поглощения и набуханием астроцитов. При этом выброс аспартата несколько отсрочен по сравнению с выбросом глутамата, но в дальнейшем его уровень продолжает медленно нарастать и не зависит от концентрации внеклеточных ионов Na^+ .

Т. Majumdar с соавт. [146] подчеркивают, что именно мембранная дестабилизация высокими концентрациями внеклеточных ионов K^+ приводит к экстрацеллюлярному выбросу глутамата, аспартата, ГАМК, глицина, причем уровни концентраций глутамата и ГАМК примерно равны. Однако дальнейшее увеличение концентрации внеклеточного глутамата на фоне K^+ -наведенной деполяризации при мозговой ишемии не зависит от уровня ионов K^+ , а связано с везикулярным выбросом, модулированным NO .

Концентрация ионов Na^+ во внеклеточной среде значимо не влияет на выброс глутамата и аспартата, но изменяет Na^+ -зависимый отток глутамата из синаптической щели в клетку [88]. Применение блокаторов Na^+ -каналов при мозговой ишемии вызывает уменьшение ишемического повреждения на 50 % по сравнению с контролем. Авторы объясняют это предотвращением деполяризации нейрональных мембран вследствие ограничения Na^+ -зависимого транспорта глутамата и внутриклеточного накопления Ca^{2+} ,

также, возможно, блоком выброса эндогенного глутамата из пресинаптических окончаний [88].

Таким образом, в нормальных условиях поддерживается относительное постоянство внеклеточных концентраций глутамата и аспартата. Повышение их включает компенсаторные механизмы: обратный захват нейронами и астроцитами избытка из межклеточного пространства, пресинаптическое торможение выброса нейротрансмиттеров, метаболическую утилизацию и др. [14]. В условиях ишемии нарушается высокоселективная система транспорта глутамата и аспартата из синаптической щели в астроглию [30, 56, 72], изменяется система путей преобразования медиаторов [183]. Эти изменения приводят к тому, что абсолютная концентрация и время пребывания глутамата и аспартата в синаптической щели превышают допустимые пределы и процесс деполяризации мембран нейронов приобретает необратимый характер.

4.1.3. Участие глутаматных рецепторов в механизмах церебральной ишемии

Накопление в синаптической щели высоких концентраций возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот обуславливает возбуждение глутаматных рецепторов, представляющих собой 15-процентную популяцию. J. Davies и J.T. Watkins в 1982 г. разделили глутаматные рецепторы на 2 класса: *NMDA* и не-*NMDA* [65]. Дальнейшие исследования с использованием современных методов электрофизиологии, радиолангандного связывания и молекулярной биологии позволили установить, что в ЦНС млекопитающих существуют семейства ионотропных и метаботропных глутаматных рецепторов.

Ионотропные глутаматные рецепторы модулируют проницаемость ионных каналов и классифицируются в зависимости от чувствительности к действию *N*-метил-*D*-аспартата (*NMDA*), α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты (α -*HPA*), каиновой кислоты (*K*) и *L*-2-амино-4-фосфорномасляной кислоты (*L-AP₅*) наиболее селективных лигандов данного типа рецепторов. Изучены эти соединения были присвоены соответствующим типам рецепторов: *NMDA*, *AMPA*, *K* и *L-AP₅* [7, 8, 17, 219].

Ионотропные рецепторы играют ключевую роль в осуществлении возбуждающей нейротоксичности в ЦНС, наиболее значимой в запуске каскада патобиохимических реакций при острой фокальной церебральной ишемии. Лучшее понимание механизмов *NMDA*-типа (рис. 4.5). Перевозбуждение глутаматом именно *NMDA* рецепторов приводит к «шоковому» открытию кальциевых каналов и мощному притоку ионов Ca^{2+} в нейроны с внезапным увеличением его концентрации до пороговой [54, 136, 159].

Изучение действия на *NMDA* рецепторы соединений различных классов показало, что постсинаптический *NMDA* рецептор представляет сложное надмолекулярное образование, включающее несколько сайтов (участков) регуляции: сайт специфического связывания медиатора (*L*-глутаминовой кислоты), сайт специфического связывания коагониста (глицина) и аллостерические модуляторные сайты, расположенные как на мембране (полнаминный), так и в ионном канале, сопряженном с рецептором (сайты связывания двухвалентных катионов и «фенициклидиновый» сайт — участок связывания неконкурентных антагонистов). Поэтому наряду с термином «*NMDA* рецептор», ряд авторов используют термин «*NMDA* рецепторно-ионофорный комплекс», подчеркивая тем самым сложность его

строения и множественность возможностей регуляции его функций [8, 17, 57, 223].

В нашей совместной работе с Институтом мозга человека РАН [3, 4, 93] впервые был установлен факт повышения титра аутоантител к фенциклидин-связывающему белку *NMDA* рецепторов в сыворотке крови больных с острым ишемическим инсультом (патент России № 2123704 «Новый способ диагностики острой церебральной ишемии», 1995/1998).

В неврологической клинике Российского государственного медицинского университета проведено клинико-иммунобиохимическое обследование 70 больных (30 мужчин и 40 женщин, средний возраст — 65,3 года). Обследование проводили методом стандартного твердофазного иммуноферментного анализа (*ELISA*) в модификации, разработанной в НИИ мозга человека РАН [7, 62]. Больные поступили в нейрореанимационное отделение в течение первых 2—6 часов от начала ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии. Им проводилось комплексное, максимально унифицированное лечение без использования антиагрегативных препаратов.

Содержание в сыворотке крови аутоантител к фенциклидин-связывающему мембранному белку, выделенному из ткани головного мозга человека, определяли в мониторинг-тестах через 3, 6, 9, 12, 24 ч с момента развития инсульта, а также на 3 и 5 сутки. Использовали опытную партию диагностических наборов, произведенную в лаборатории нейробиологии НИИ мозга человека РАН. Наималый показатель титра аутоантител был установлен на основании обследования 200 здоровых добровольцев (средний возраст 63,7 года) и составил 0,3—1,5 нг/мл, что, по-видимому, отражает наличие фоновой, фоновой обновления глутаматных рецепторов в рамках обычных физиологических процессов в организме [7, 62].

У всех больных, поступивших в клинику в состоянии средней тяжести или тяжелом, уже в первые 2—3 ч после начала инсульта отмечали достоверное повышение титра аутоантител к фенциклидин-связывающему мембранному белку *NMDA* рецепторов ($p < 0,01$) (табл. 4.1; рис. 4.6), которое сохранялось на протяжении 3—5 дней. Предположительно причиной повышения титра аутоантител могло быть повреждение рецепторов вследствие их «перегрузки» избытком синаптического глутамата или разрушение новообразованных структурно-нестоящих рецепторов.

Степень повышения титра аутоантител к глутаматным *NMDA* рецепторам коррелировала с тяжестью ишемического процесса. При тяжелых инсультах значения титра были существенно выше, чем при инсультах средней тяжести; особенно выраженными различия становились через 9—12 ч после начала заболевания ($p = 0,01$). В группе больных с состоянием средней тяжести к концу 1-х суток развития инсульта проявлялась тенденция к снижению титра аутоантител, к 5-м суткам при регрессирующем течении заболе-

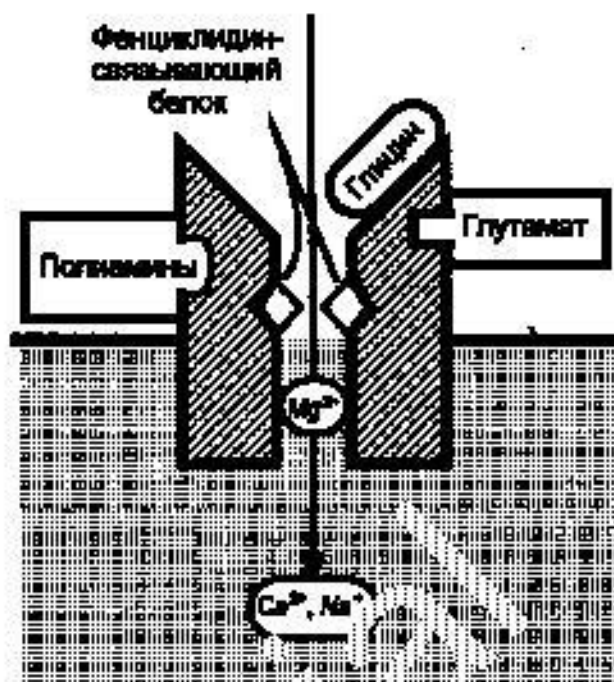


Рис. 4.5. Глутаматный *NMDA* рецептор.

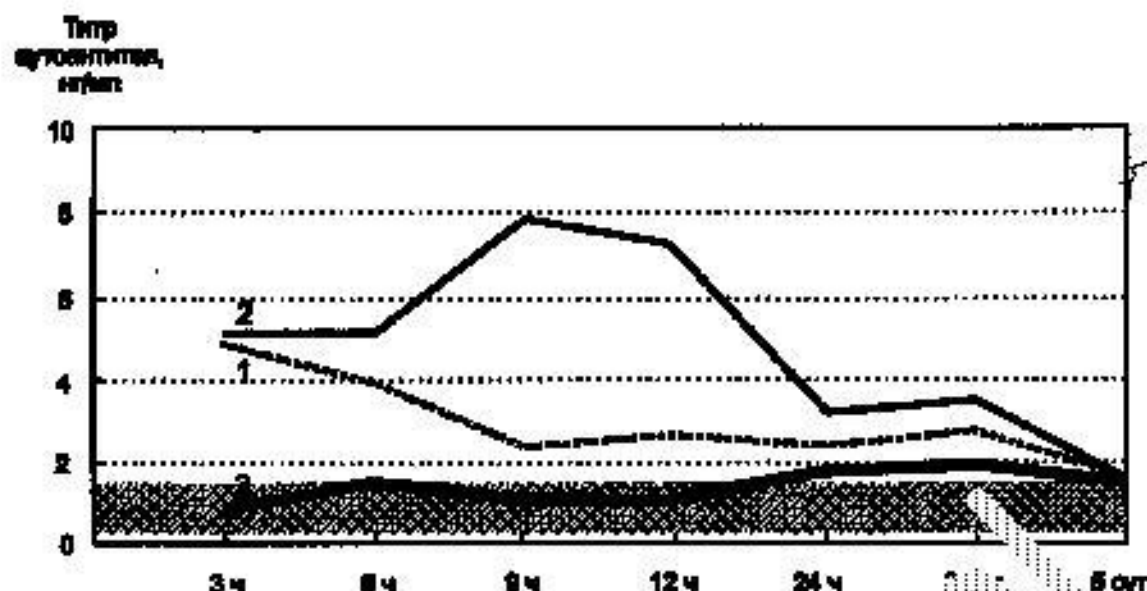


Рис. 4.6. Титр аутоантител к фенциклидин-связывающему белку глутаматных NMDA рецепторов в сыворотке крови в зависимости от исходной тяжести состояния больных.

Здесь и в табл. 4.1: 1 — состояние средней тяжести; 2 — тяжелое; 3 — крайне тяжелое. Заштрихованная область — норма.

вания отмечалась его нормализация. У больных с тяжелыми инсультами уровень аутоантител оставался повышенным более длительно; при регрессирующем течении тенденция к его снижению начинала проявляться на 3—5-е сутки, при прогрессирующем — только высокие значения определялись на протяжении всего периода наблюдения (см. табл. 4.1 и рис. 4.6).

Ретроспективное изучение изменений титра аутоантител в зависимости от исхода заболевания и степени восстановления нарушенных неврологических функций к концу третьего периода инсульта (21-е сутки) позволяло установить прогностическую значимость его исходных величин (в 1-е сутки)

Таблица 4.1. Титры аутоантител к фенциклидин-связывающему белку глутаматных NMDA рецепторов (в нанограммах на 1 мл) в сыворотке крови больных в зависимости от исходной тяжести инсульта

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	38,6±0,4	4,86±0,8	3,95±0,7	2,54±0,3	2,72±0,3	2,45±0,3	2,8±0,5	1,63±0,1	
2	32,7±0,5	5,04±0,9	5,10±0,7	7,90±1,2	7,30±1,5	3,20±0,6	3,50±0,5	1,67±0,3	
3	26,3±0,4	0,9±0,2	1,56±0,2	1,26±0,6	1,23±0,2	1,77±0,4	2,00±0,7	1,65±0,5	
p1-2	0,01	>0,05	>0,05	0,01	0,01	>0,05	>0,05	>0,05	
p1-3	0,001	0,01	0,01	0,05	0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
p2-3	0,01	0,01	0,01	0,001	0,001	0,05	>0,05	>0,05	

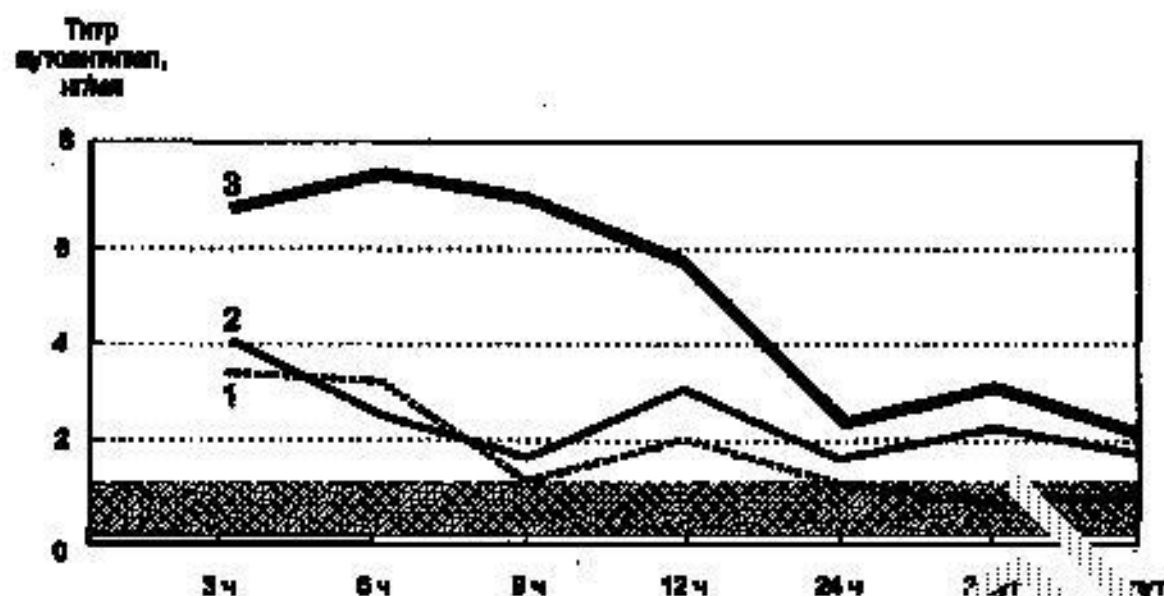


Рис. 4.7. Титр аутоантител к фенилклидин-связывающему комплексу глутаматных NMDA рецепторов в сыворотке крови в зависимости от степени восстановления неврологических функций к 21-м суткам заболевания.

Здесь и в табл. 4.2: 1 — хорошее восстановление; 2 — умеренная инвалидизация; 3 — тяжелая инвалидизация.

и динамики (табл. 4.2; рис. 4.7). У тех больных, у которых в течение первых 9 ч с момента развития заболевания (7,02—7,5 нг/мл), достоверно превышающие показатели у больных с хорошим восстановлением функций (индекс Бартела 75—100) ($p < 0,01$) и умеренной инвалидизацией (индекс Бартела 50—70) ($p < 0,01$) (см. табл. 4.2; рис. 4.7). Наибольшее благоприятное течение инсульта с полным восстановлением неврологических функций (варианты «малого» инсульта) предшествовало стойкому снижению титра аутоантител к концу 1-х суток.

Таблица 4.2. Проспективный анализ динамики титра аутоантител к фенилклидин-связывающему комплексу глутаматных NMDA рецепторов (в наногр/мл) в сыворотке крови больных в зависимости от исхода инсульта

Группа	3ч	6ч	9ч	12ч	24ч	21 сут	28 сут	3 мес
1	46,0±0,5	3,60±0,6	3,36±0,6	1,48±0,3	2,25±0,3	1,60±0,1	1,15±0,5	1,26±0,3
2	42,0±0,4	4,15±0,6	2,87±0,6	1,90±0,2	3,21±0,4	1,99±0,4	2,60±0,4	2,13±0,2
3	34,7±0,6	6,83±0,9	7,50±1,3	7,02±1,4	5,83±1,4	2,68±0,4	3,36±0,3	2,60±0,3
p1-2	0,01	>0,05	>0,05	>0,05	0,05	>0,05	0,05	0,05
p1-3	0,001	0,01	0,01	<0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
p2-3	0,01	0,05	<0,01	<0,01	0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Таким образом, достоверное увеличение уровня специфических аутоантител к фенциклидин-связывающему мембранному белку *NMDA* рецепторов, прямо коррелирующее с тяжестью ишемического инсульта, подтверждает значимость изменений глутаматной системы в развитии острой церебральной ишемии, являясь отражением иммунной реакции на процессы разрушения и обновления глутаматных рецепторов. Корреляции между титром аутоантител и концентрацией глутамата, аспартата и глицина в цереброспинальной жидкости выявлено не было.

Значительное стабильное повышение сывороточного титра аутоантител уже в первые 3 ч после развития инсульта может указывать на предшествующую сенсибилизацию ткани мозга к фрагментам *NMDA* рецепторов вследствие наличия у больных «фоновых» доинсультных повреждений мембран нейронов и изменений гематоэнцефалического барьера, т.е. на преуготовленность ткани мозга к формированию инфаркта, что, вероятно, обусловлено хронической ишемизацией мозга, прогрессивным течением ишемической болезни мозга (см. главу 9).

Особого внимания заслуживают больные с самыми тяжелыми формами каротидного ишемического инсульта (субтотальная ишемия с нарушением большого мозга), поступившие в клинику с нарушениями сознания, признаками отека мозга, вегетативно-трофическими расстройствами (суммарный клинический балл по шкалам Ортогосо и Ринна-Косиной составил менее 25 и 30 соответственно). В отличие от остальных больных с инсультом у больных этой группы титр аутоантител к фенциклидин-связывающему мембранному белку *NMDA* рецепторов «не вышел» за пределы нормы. Незначительная тенденция к его нарастанию наблюдалась через 6 ч после сосудистого нарушения, но не была достоверной ($p > 0,05$). Следует отметить, что в случаях, закончившихся смертью пациента, титр аутоантител проявлял тенденцию к снижению по сравнению с исходным уровнем до нижней границы нормы (рис. 4). Таким низким оказался последний перед смертью показатель, средняя величина которого составила $0,9 \pm 0,15$ нг/мл. Напротив, у выживших больных к концу 1-х суток инсульта регистрировалась тенденция к некоторому увеличению уровня аутоантител. Различия средних титров у выживших и умерших больных были достоверны на 3–5-е сутки ($p < 0,05$).

Отсутствие феномена активации аутоиммунных процессов у больных в крайне тяжелом состоянии может быть связано с развитием острого иммунодефицитного состояния на фоне стресс-ишемии. Снижение титра аутоантител до субнормальных величин является наиболее неблагоприятным прогностическим критерием, как правило, предшествующим смерти больного.

Своеобразная роль глицинового сайта *NMDA* рецепторов. Глицин в концентрации 0,1 мМ увеличивает ответы *NMDA* рецептора, и этот эффект не может быть заблокирован стрихнином, тогда как стрихнин является блоком сальцициловых глициновых рецепторов. Сам глицин не вызывает возбуждающего ответа, а лишь увеличивает частоту открывания рецепторного канала, не влияя на амплитуду тока при действии агонистов *NMDA* [8, 118].

Механизм высокой аффинной проницаемости канала *NMDA* рецепторов для ионов Ca^{2+} отличен от такового для потенциал-зависимых кальциевых каналов и определяется в первую очередь ионами Mg^{2+} , которые обеспечивают неконкурентный потенциал-зависимый характер торможения синаптического возбуждения [27, 246].

Добавление ионов Zn^{2+} к системе центральных нейронов влияет на вызванные агонистами *NMDA* рецепторов деполяризацию мембран нервных

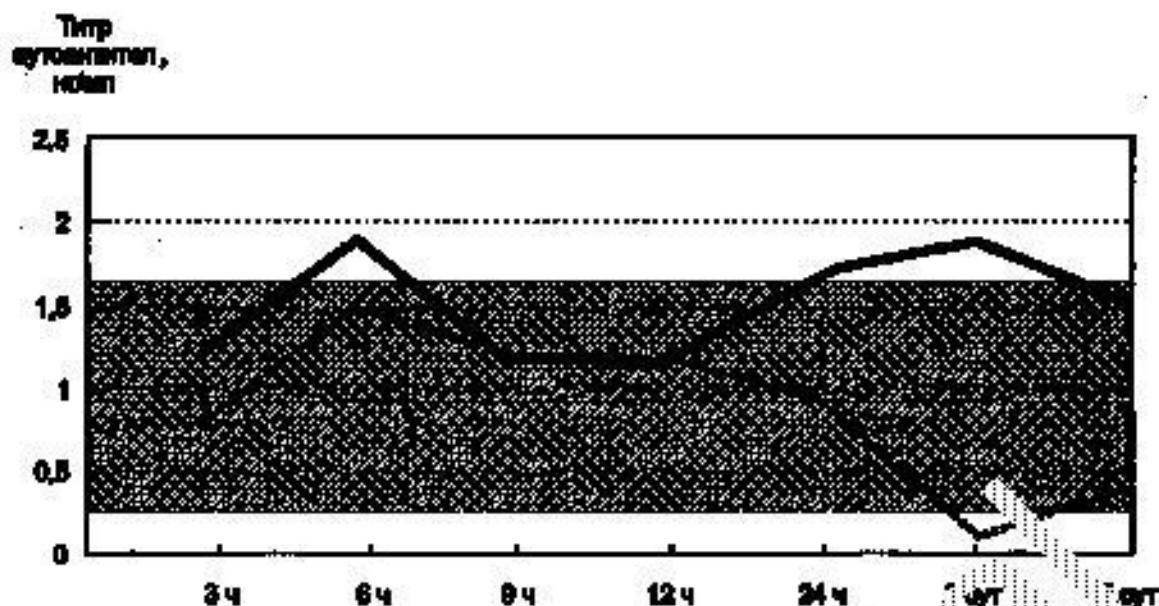


Рис. 4.6. Титр аутоантител к фенциклидин-связывающему участку глутаматных *NMDA* рецепторов в сыворотке крови больных, находящихся в крайне тяжелом состоянии.

1 — умершие; 2 — выжившие.

клеток и нейротоксические изменения, но не исключает воздействия на подобные процессы, индуцированные Ca^{2+} или квисквалатом [54]. Это свидетельствует о том, что точка приложения модулирующего действия ионов Zn^{2+} на *NMDA* рецепторной имплицитно аллостерически тесно связана с участком связывания медиатора [150].

По данным J.-M. Lee и соавт. [177], в ишемизированном мозге действует несколько факторов, способных подавить функцию *NMDA* рецепторов и уменьшить *NMDA* опосредованную «эксайтотоксичность» *in vitro*, по сравнению с условиями *in vivo*. К ним относят накопление молочной кислоты, увеличивающую концентрацию внеклеточных ионов H^+ [226], воздействие ионов Mg^{2+} , свободных радикалов [25], а также дефосфорилирование *NMDA* рецепторов вследствие низкой внутриклеточной концентрации *ATP* [228] и прямое ингибирование их функции кальций-кальмодулином [247].

В последние годы появились данные о нейротоксических свойствах глутамата, связанных с активацией *AMPA* и квинатных рецепторов, приводящей к изменению проницаемости постсинаптической мембраны для одновалентных ионов K^+ и Na^+ , усилению входящего тока ионов Na^+ и кратковременной деполяризации постсинаптической мембраны [204], что в свою очередь вызывает усиление притока ионов Ca^{2+} в клетку через агонист-зависимые (*NMDA* рецепторов) и потенциал-зависимые каналы [42, 43, 70, 138, 209]. Поток ионов Na^+ сопровождается входом в клетки воды и ионов Cl^- , что приводит к набуханию апикальных дендритов и лизису нейронов (теория «осмотического повреждения нейронов»).

Удельный вес *AMPA*/квинатной «эксайтотоксичности» может увеличиваться за счет увеличения концентрации внеклеточных протонов (ионов H^+), которое обуславливает замедление восстановления внутриклеточного

кальциевого гомеостаза и, возможно, угнетение *NMDA*-«эксайтотоксичности» [153]. Открыт и другой механизм усиления вклада *AMPA* и канинатов рецепторов в повреждение мозга — это увеличение экспрессии Ca^{2+} - и Zn^{2+} -проницаемых *AMPA* рецепторов в ответ на ишемию [109].

Исследования J.-M. Lee с соавт. [137] показали, что *NMDA*-«эксайтотоксичность» является преобладающим механизмом глутамат-индуцированной «эксайтотоксичности» для определенных групп клеток. В то же время тормозные ГАМК-содержащие корковые нейроны и олигодендроциты характеризуются повышенной экспрессией кальций-проницаемых *AMPA* рецепторов, что делает их высокочувствительными к *AMPA*-опосредованной смерти [119, 152, 153, 242]. Темпы гибели культуры олигодендроцитов замедляются при введении *AMPA*-антагониста.

Метаботропные глутаматные рецепторы, связанные с G-белком и активирующие внутриклеточный метаболизм, играют важную роль в регуляции внутриклеточного кальциевого тока, вызванного активацией *NMDA* рецепторов при мозговой ишемии [184], и выполняют модуляторные функции, индуцируя долговременные изменения в деятельности клеток [49, 140, 203, 239]. Эти рецепторы не влияют на функционирование ионных каналов, но стимулируют образование двух внутриклеточных вторичных мессенджеров — диацилглицерола (DAG) и инозитол-1,4,5-трифосфата (IP₃), принимающих участие в дальнейших процессах ишемического каскада.

4.2. Этап амплификации: внутриклеточное накопление ионов кальция, «распространяющаяся глутаматная эксайтотоксичность», «распространяющаяся депрессия», цинк-опосредованная «эксайтотоксичность»

Этап амплификации (подъем и нарастающее сарколеммное напряжение) связан прежде всего с продолжением и усилением концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} [54, 202, 213]. Уязвимость механизмов кальций-опосредованной «эксайтотоксичности» в развитии острой церебральной ишемии и формировании инфаркта мозга подтверждена серией работ, посвященных изучению избирательной чувствительности отдельных нейрональных групп при ишемии мозга. Показано [41, 91, 192], что при одинаковых условиях снижения перфузии и энергетического дефицита определенные типы нейронов (пирамидные клетки CA1, области гиппокампа, нейроны средней величины дорсальной области отдела стриатума) проявляют повышенную чувствительность к ишемии. Морфологические исследования позволили связать особую уязвимость этих ишемии с высокой плотностью кальциевых каналов на поверхности нейронов, создающих «горячие» пятна скопления кальция в дендритах. S.M. Rothman, J.M. Olney [197], B.S. Meldrum [154] доказали, что скопление кальция обусловлено высокой плотностью агонист-зависимых кальциевых каналов, контролируемых *NMDA* рецепторами. Именно вызванная ишемией внеклеточная аккумуляция глутамата и аспартата является основным фактором избирательного повреждения нейронов [73, 117, 237]. Интересно отметить, что нейроны, наиболее чувствительные к ишемии, наряду с мощным глутамат-аспартатным возбуждающим входом на «дендритном дереве» имеют множество ГАМКергических терминалей на телах клеток [211], и в норме механизмы глутамат-возбуждения и

ГАМК-торможения находятся в постоянном равновесии. Это подтверждает наши клинические наблюдения об особой важности дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами, ограничивающего своевременное включение защитных тормозных механизмов мозга.

Продолженное увеличение концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} частично обусловлено тем, что инозитол-1,4,5-трифосфат (IP_3) индуцирует их высвобождение из внутриклеточных депо [157]. Кроме того, дополнительные ионы Ca^{2+} поступают в клетки извне через потенциал-зависимые кальциевые каналы, реагирующие на изменения трансмембранного распределения зарядов, а также при помощи мембранных молекул-переносчиков, обменивающих ионы Na^+ на ионы Ca^{2+} .

Исследования R. Linde с соавт. [139] показали, что внутриклеточному накоплению ионов Ca^{2+} способствует миграция сывороточных белков через измененный гематоэнцефалический барьер в ткань мозга. Установлено, что присутствие альбумина в условиях повышенного высвобождения глутамата значительно увеличивает зону ишемического повреждения. Альбумин потенцирует «эксайтотоксичность», длительно удерживает агонист потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы $NMDA$ рецепторов в открытом состоянии [75].

Нарастание концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} в сочетании с повышением содержания DAG изменяет активность ферментов, модифицирующих мембранные белки, в том числе глутаматные рецепторы. В результате увеличивается чувствительность нейронов к возбуждающим сигналам. Замыкается «порочный круг»: повышенная возбудимость может способствовать дальнейшему накоплению ионов Ca^{2+} , усилению выделения глутамата из нервных окончаний (см. рис. 4.1).

По экспериментальным данным J.-K. Siegel, F. Bengtsson [213], в областях мозга с плотно прилегающими нейронами, содержащими $NMDA$ рецепторы, одна массивно деполяризованная клетка индуцирует такое высвобождение глутамата, что возбуждает соседние нейроны.

В зоне пенумбры, как правило, не отмечается длительного и выраженного увеличения концентрации глутамата, что свидетельствует о том, что «эксайтотоксические» процессы в ней не связаны с повышением синтеза возбуждающих аминокислот. Повышенное количество глутамата может поступать в зону пенумбры из «ядерной» области ишемии, повреждать близлежащие нейроны, индуцируя дальнейший выброс нейротрансмиттера [172]. Таким образом, вероятным механизмом глутаматной «эксайтотоксичности» в зоне пенумбры является самораспространяющийся процесс метаболических нарушений от нейрона к нейрону, от центра к периферии ишемизированной территории («механизм домино») [213].

Альтернативной причиной повышения концентрации внеклеточного глутамата в зоне пенумбры является «распространяющаяся депрессия», или перинфарктная деполяризация [100, 165]. «Распространяющаяся депрессия» — хорошо известный феномен, описанный в 1944 г., при котором развивается преходящее нарушение ионного градиента мембран клеток мозга. Это нарушение имеет форму волны, которая медленно движется по тканям ЦНС [115] согласно их цитоархитектонике. Для распространения волны необходимо наличие нейронов и астроцитов [113, 218]; волна «депрессии» никогда не распространяется по трактам белого вещества или швовой ткани, лишенной нейронов.

«Распространяющаяся депрессия» является волной практически полной деполяризации мембраны, имеющей концентрическую форму, которая проходит со скоростью 1,5–1,7 мм/мин по ЦНС, вызывая изменения вне-

клеточного потенциала до 30 мВ [45]. При этом происходит сжатие внеклеточного пространства на 50 % за счет набухания астроцитов и дендритов. Для «распространяющейся депрессии» характерны увеличение концентрации ионов K^+ (до 30–80 ммоль) во внеклеточном пространстве, а ионов Na^+ , Cl^- и Ca^{2+} — внутри клеток [130], открытие анионных каналов, пронизываемых для молекул бикарбоната и воды [187]. Бикарбонатный сдвиг приводит к формированию ацидоза в нейронах и внеклеточном пространстве; в астроцитах, напротив, развивается алкалоз. Спустя 1–2 мин после прохождения волны депрессии концентрация ионов K^+ начинает возвращаться к исходному уровню, нормализуется ионный градиент и наступает реполяризация мембран клеток, означающая конец действия «распространяющейся депрессии».

Прохождение волны депрессии сопровождается расширением мелких кровеносных сосудов с увеличением локального тока крови, улучшением митохондриального окисления и повышением продукции лактата [141], что сменяется в постволновом периоде обратными реакциями [131]. Выявленные фазные изменения могут косвенно отражать необходимость дополнительных энергетических затрат ткани мозга, вовлеченной в процесс «распространяющейся депрессии».

Механизм «распространяющейся депрессии» до настоящего времени окончательно неясен. Показано, что волна депрессии может распространяться даже при условии полной блокады аксональной проводимости и синаптической передачи [105]. Антагонисты глутаматных умещают представленность «распространяющейся депрессии», изменяя некоторые ее черты, но не подавляют ее полностью [227]. Вместе с тем блокада фосфотриггеров, связанных с ростом (GAP), способна прерывать волну «распространяющейся депрессии» во всех тканях [115]. Экспериментально продемонстрировано, что астроциты в клеточных культурах и срезах мозга осуществляют самораспространение волны депрессии через свои GAP-соединения со скоростью, сходной с таковой при «распространяющейся депрессии» *in vivo* [59, 63]. Более того, кальциевые волны, распространяющиеся по астроцитарному синцитию в клеточных структурах, способны вызывать цитозольное увеличение ионов Ca^{2+} в нейронах по всему астроцитарному слою [164]. Такое увеличение наблюдается при использовании блокаторов GAP-соединений. Эти наблюдения подтверждают тесное глияльно-нейрональное взаимодействие и особую важную роль астроцитов во время прохождения волны «распространяющейся депрессии» [115].

C. Laga et al. [131] подчеркивают значимость нейрональных GAP-соединений в распространении депрессии. По их данным, энергетический дефицит в глияльных клетках делает нейроны более восприимчивыми к «распространяющейся депрессии». Нейрональные GAP-соединения, «закрытые» в обычных условиях, «открываются» при прохождении волны депрессии.

Начиная с 1977 г. накапливаются доказательства участия феномена «распространяющейся депрессии» в расширении инфарктной зоны при фокальной ишемии. N.M. Vignatelli с соавт. [38] первыми показали, что после преходящей фокальной ишемии из перинфарктной области, расположенной между центральным некрозом и зоной пенумбры, берет начало волна депрессии. Увеличение внеклеточной концентрации ионов K^+ в некротизированной ткани, являющееся результатом нарушений активного ионного транспорта, служит основным триггерным механизмом, запускающим волну «депрессии», повторяющиеся с интервалом примерно 10 мин [165]. Во время «распространяющейся депрессии» отмечается несоответствие

между энергетическими затратами деполяризованной ткани и ее энергетическими потребностями, что является фактором, дополнительно повреждающим зону пenumбры и медленно расширяющим центральную некротизированную зону [28]. Роль «распространяющейся депрессии» в увеличении инфарктного очага подтверждается корреляцией между объемом зоны некроза и числом волн депрессии [156]. Каждая волна увеличивает объем инфарктной зоны примерно на 23 %.

В то же время «распространяющаяся депрессия» не повреждает здоровые ткани и не увеличивает за счет их зону пenumбры [71]. Более того, обсуждается вопрос о возможном протективном действии волн «депрессии» на периферические отделы ишемизированной ткани мозга за счет стимуляции синтеза трофических факторов [128].

Таким образом, исследования последних лет продемонстрировали роль в развитии ишемического повреждения метаболических глутамат-кальциевых изменений и мембранной деполяризации, распространяющихся от центральной инфарктной зоны к периферическим областям пenumбры. Непрерывная связь между изменениями активного ионного транспорта, деполяризацией клеточных мембран и высвобождением глутамата позволяет предполагать сочетанность и тесную взаимозависимость процессов «распространяющегося глутаматного выброса» и «распространяющейся депрессии».

В последние годы появились сведения о том, что наряду с ионами Ca^{2+} в механизмах ишемического повреждения нейронов принимают участие и другие двухвалентные катионы. Анализ селективной гибели нейронов в эксперименте с транзиторной глобальной ишемией выявил факт *зависимой от цинка «эксайтотоксичности»*.

Цинк присутствует в клетках в качестве кофактора многих металлозависимых ферментов и транскрипционных факторов. Он также является нейротрансмиттером и нейромодулятором ГНС [87]. Значительные концентрации ионов Zn^{2+} обнаружены в пресинаптических везикулах и синаптическом пространстве сразу после стимуляции нейронов. Было установлено, что цинк может воздействовать на ряд рецепторов и потенциал-зависимых ионных каналов, в частности может ингибировать активность *NMDA* рецепторов [25, 55].

Концепция цинк-опосредованной нейротоксичности была впервые сформулирована Н. Дюпонт с соавт. [229]. Было показано, что при транзиторной глобальной ишемии внутриксональные резервы ионов Zn^{2+} в нейронах гипоталампа истощаются, но при этом аномально высокие их концентрации регистрируются в телах CA_1 нейронов, являющихся наиболее восприимчивыми к транзиторной глобальной ишемии. Такое перемещение ионов Zn^{2+} и нейрональная дегенерация приостанавливаются в условиях краниocereбральной гипотермии [117]. Нейротоксическая роль ионов Zn^{2+} подтверждается и тем, что их перемещение из пресинаптических терминалей в постсинаптические нейроны, селективно восприимчивые к транзиторной глобальной ишемии, возникает диффузно в различных отделах мозга и непосредственно предшествует явлениям дегенерации нейронов [55].

Исследования D.W. Choi и J.Y. Koh [55] доказали, что при церебральной ишемии цинк может играть роль, сходную с ролью глутамата, и приводить к повреждению и смерти нейронов (рис. 4.9). В экспериментах на культуре ткани высокие концентрации цинка убивали центральные нейроны, особенно если они были деполяризованы [235]. В работах S.L. Sensi с соавт. [207], E.Y. Kim с соавт. [126, 127] показано, что, подобно кальцию,

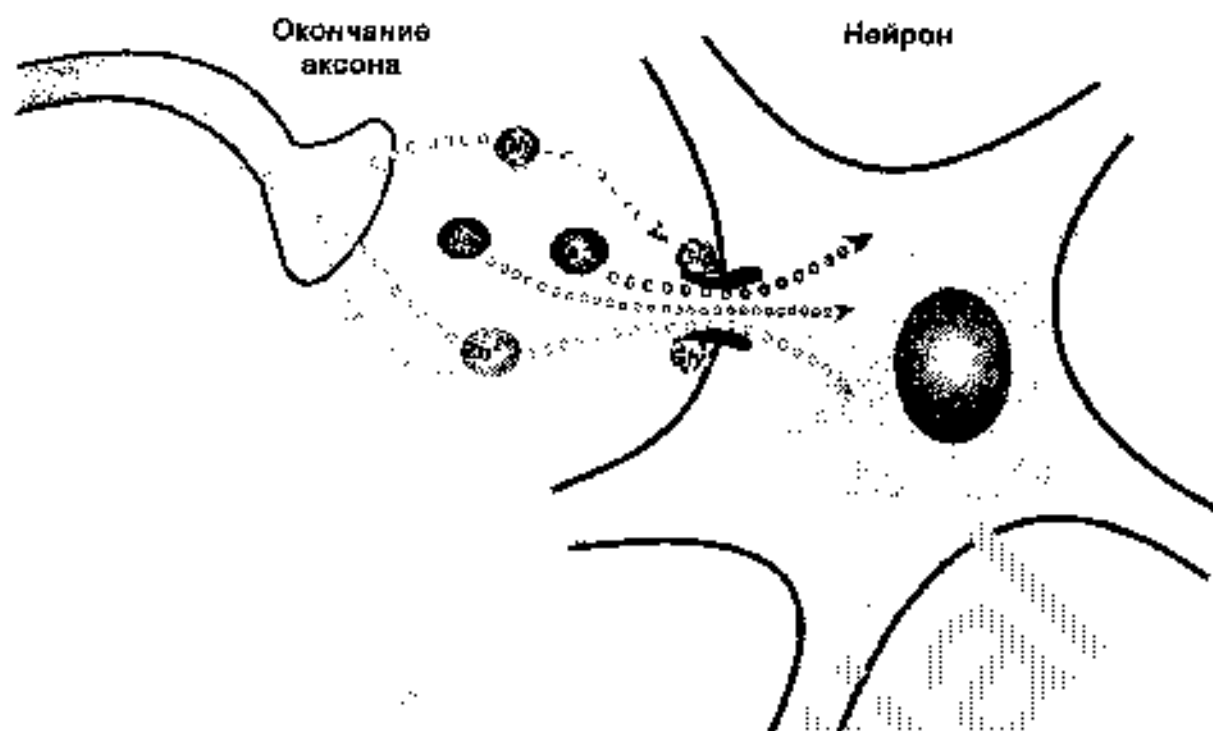


Рис. 4.В. «Эксайтотоксическое» повреждение мозговой ткани (схема).

Ионы кальция (Ca^{2+}), цинка (Zn^{2+}) и глутамат (Glu) в больших количествах высвобождаются из нервных окончаний подвергшихся ишемии нейронов, что приводит к повреждению и гибели ближайших клеток.

цинк, проникая в избытке внутрь клеток, может вызывать их некроз или апоптоз, в зависимости от интенсивности экспозиции. Проникновение ионов Zn^{2+} в клетки происходит через ионные кальциевые каналы (потенциал-зависимые — и обмен с другими ионами Na^+ ; агонист-зависимые, сопряженные с NMDA рецепторами; кальций-проницаемые AMPA рецепторы) [207].

Избыток внутриклеточного цинка приводит к снижению уровня внутриклеточной ATP , поэтому он может существенно нарушать процессы гликолиза, опосредуя накопление промежуточных его продуктов и дигидроксиацетилфосфата [197]. Ионы цинк-опосредованной гибели клеток можно уменьшить влиянием тиурвата, который в норме образуется в результате метаболических реакций, угнетающих избыток цинка.

4.3. Этап экспрессии: активация клеточных ферментов, оксидантный стресс и избыточный синтез оксида азота, накопление низкомолекулярных цитотоксичных соединений

В итоге этапа амплификации создаются условия для третьего этапа глутамат-кальциевого каскада—экспрессии, в течение которого происходят необратимые изменения, приводящие к некротической смерти клетки.

Избыточное внутриклеточное накопление иона Ca^{2+} и переход кальция в активную форму посредством соединения с внутриклеточным рецептором кальмодулином вызывают *активацию кальмодулин-зависимых внутриклеточных ферментов: фосфолипаз, протеинкиназ, эндонуклеаз* [33, 180].

«Запуск» каскадных ферментативных реакций приводит к множественным повреждениям биомакромолекул и в конечном счете к гибели клеток [176].

Особенно разрушителен распад фосфолипидов в наружной клеточной мембране и в мембранах внутриклеточных органелл. Уже через несколько минут после начала ишемии отмечается высвобождение из мембран пальмитиновой и докозогексаеновой кислот, которое свидетельствует о разрушении фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина [24]. Исследования [149, 243] показали, что при 30-минутной ишемии разрушается около 16 % мембранного фосфатидилэтаноламина и высвобождается около 37 % свободной арахидоновой кислоты.

Метаболизм арахидоновой кислоты сопряжен с образованием простагландинов, тромбоксанов, гидрокси- и гидропероксидных кислот, лейкотриенов, липоперексидов и реактивных свободных радикалов [51, 240], т.е. значительно интенсифицирует процессы свободнорадикального окисления (СРО) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) [9, 10, 182, 202]. Резкое усиление окислительных процессов при недостаточности системы антиоксидантной защиты приводит к развитию оксидантного стресса, являющегося одним из универсальных механизмов повреждения тканей организма.

Особая опасность развития оксидантного стресса в ЦНС определяется значительной интенсивностью окислительного метаболизма мозга, составляющего 2 % от общей массы человека, а утилизирующего до 50 % всего потребляемого кислорода. Интенсивность потребления кислорода нейронами в десятки раз превышает потребности других клеток и тканей (350—450 мкл O_2 /г в 1 мин по сравнению с 70—80 мкл для сердца, 1,6—2,4 мкл для скелетных мышц, 9—24 мкл для фагоцитирующих лейкоцитов) [10]. Дополнительными факторами развития оксидантного стресса в ткани мозга являются высокое содержание в ней липидов (около 50 % сухого вещества), ненасыщенные связи которых служат субстратом для ПОЛ; аскорбата (в 100 раз больше, чем в периферических тканях), участвующего в качестве прооксиданта в неферментативных процессах ПОЛ. Активность ферментативных антиоксидантных систем (каталазы, глутатионпероксидазы) в мозге значительно ниже, чем в других тканях, что еще больше повышает риск развития оксидантного стресса.

Свободный радикал представляет частицу молекулы с неспаренным электроном на одной из орбит. Кислородными радикалами (обладающими кислородом с неспаренным электроном) являются супероксид-анион и гидроксильный радикал.

В физиологических условиях кислородные радикалы вырабатываются во всех клетках как звено аэробного метаболизма. Полное восстановление молекулы кислорода до воды требует 4 электронов: во время переноса первого формируются супероксид-радикал, при переносе второго — перекись водорода, наиболее токсичный и реактивный гидроксил-радикал является результатом третьего переноса, а вследствие четвертого переноса образуется молекула воды. Акцепторами свободных радикалов в основном являются вещества с низкой молекулярной массой, расположенные в цитоплазме или на клеточных мембранах. В естественных условиях в качестве антиоксидантов действуют супероксиддисмутаза, глутатион, глутатион-пероксидаза, каталаза, церулоплазмин, витамины А, Е, С, К, флавоноиды, кумарины.

При снижении мозгового кровотока и развитии церебральной ишемии основным источником интермедиатов O_2 являются нарушенные процессы митохондриального окислительного фосфорилирования [37] (см. главу 3). Снижение поступления в нейроны молекулярного кислорода и повышение

уровня восстановленности компонентов дыхательной цепи стимулируют восстановление кислорода по одноэлектронному пути с образованием свободных радикалов, а также оксидантов нерадикальной природы (пероксида водорода и аниона гипохлорита), поскольку O_2 легко реагирует с промежуточными компонентами дыхательной цепи в восстановленном состоянии [52].

Основные интермедиаты кислорода ($O_2^{\bullet-}$ — супероксид-радикал; $HO_2^{\bullet}$ — перидрокси-радикал; H_2O_2 — перекись водорода; $^{\bullet}OH$ — гидроксил-радикал) образуются в последовательных реакциях *Haber—Weiss* [52]:

1. $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$
2. $O_2^{\bullet-} + H^+ \rightarrow HO_2^{\bullet}$
3. $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} \xrightarrow{+2H^+} 2H_2O_2$
4. $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
5. $O_2^{\bullet-} + 2H_2O_2 \rightarrow ^{\bullet}OH + OH^- + O_2$
6. $O_2^{\bullet-} + NO^{\bullet} \rightarrow ONOO^-$
7. $ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOOH$
8. $ONOOH \rightarrow ^{\bullet}OH + NO_2^{\bullet}$

Супероксиддисмутаза (СОД) катализирует реакцию при физиологическом pH с очень быстрой и постоянной скоростью (2×10^9 л/моль в 1 с), образуя H_2O_2 , которая потом распадается на H_2O и O_2 с помощью каталазы, а в ткани мозга — с помощью глутатионпероксидазы за счет сниженного глутатиона (4-я реакция). Окисленный глутатион может вновь перейти в глутатион с помощью глутатион-редуктазы при наличии *NADP*.

Гидроксил-радикалы ($^{\bullet}OH$) — особенно активные оксиданты, инициирующие ПОЛ, вызывающие окисление липидов и повреждение ДНК клеток. Супероксид-радикалы ($O_2^{\bullet-}$) значительно менее реактивны, но имеют более длительную жизнь и могут вызывать $^{\bullet}OH$ в 5-й реакции *Haber—Weiss*, которая протекает только в присутствии ионов Fe^{2+} (*Fenton* реакция).

Другой путь образования гидроксил-радикалов представлен реакцией (6-й) между супероксид-анионом и радикалом оксида азота ($NO^{\bullet}$), продуктом которой является пероксинитрит ($ONOO^-$) [31, 66, 161]. Эта реакция протекает с чрезвычайно высокой скоростью ($6,7 \times 10^9$ л/моль в 1 с).

Помимо дыхательной митохондриальной цепи, свободнорадикальные интермедиаты $O_2^{\bullet-}$ участвуют в ферментативных реакциях, при аутоокислении моноаминов, синтезе простагландинов и лейкотриенов. В связи с тем что большинство этих реакций являются кальций-зависимыми, характерна их значительная активация на фоне ишемии, сопровождающейся увеличением концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} .

Высокорационноспособные радикалы кислорода вызывают окисление биомакромолекул, а также инициируют цепные процессы перекисного окисления в мембранных липидах [47, 98, 182, 244], прямое окислительное повреждение нуклеиновых кислот и белков [48, 79, 106, 112].

Образующиеся в процессе ПОЛ гидроперекиси неустойчивы, их распад приводит к появлению разнообразных вторичных и конечных продуктов ПОЛ, представляющих собой высокотоксичные соединения (диеновые конъюгаты, шиффовы основания и др.), которые оказывают повреждающее действие на мембраны и клеточные структуры [9]. Как следствие образуют-

ся спивки биополимеров, определяются набухание митохондрий и разобщение окислительного фосфорилирования, инактивация тиоловых ферментов, участвующих в дыхании и гликолизе, дальнейшее разрушение липидной основы мембран [10].

Выход большого количества жирных кислот активирует цикл арахидоновой кислоты, что вызывает накопление вторичных ее продуктов — эйкозаноидов, способствующих агрегации форменных элементов крови и вазоконстрикции [22, 54]. Вследствие распада фосфолипидов образуется фактор активации тромбоцитов [54]. Эйкозаноиды и фактор активации тромбоцитов обуславливают дополнительные нарушения микроциркуляции, которые усугубляют ишемический процесс.

Увеличение концентрации свободной арахидоновой кислоты дополнительно ингибирует митохондриальное дыхание [107], а также оказывает непосредственное цитотоксическое действие. Благодаря своим амфифильным свойствам арахидоновая кислота может соединяться с цитоплазматической мембраной, встраиваясь в мембранные липиды [122]. Амфифильные жирные кислоты (в том числе арахидоновая) способны встраиваться в мицеллы, имеющие детергентные свойства, которые способны расплавлять цитоплазматические мембраны [122]. Образующаяся при окислении свободных жирных кислот спирты, кетоны, альдегиды также повреждающе действуют на мембраны нейронов [202].

Реакции оксидантного стресса тесно связаны с процессами энергетического метаболизма и глутаматной «эксайтотоксичности», образуя замкнутые порочные круги патологических превращений. В терминалы O_2 и продукты ПОЛ тормозят активность Na^+/K^+ -АТФазы периферической ферментной системы, усугубляя изменения энергозависимого ионного транспорта [202]; ингибируют фермент глутаминсинтетазу в астроцитах, нарушая обратный захват и метаболизацию глутамата и способствуя его накоплению в синаптической щели [175]. Изменяя структуру рецепторных белков, особенно G , свободные радикалы нарушают их функцию, то есть в одних условиях и активируя в других. Открытие потенциал-зависимых и агонист-зависимых ионных каналов, связанных прежде всего с ионными $NMDA$ рецепторами, приводит к быстрому входу ионов Ca^{2+} в нейрон, что усугубляет все описанные ранее реакции глутаматного каскада, а также обуславливает специфическую активацию кальций-зависимого кальпаина-I и NO -синтазы.

В условиях усиленного метаболизма АТФ и накопления ксантина и других продуктов пуринового обмена активация кальций-зависимого кальпаина-I приводит к превращению ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу. В процессе реперфузии, при поступлении O_2 в ишемизированную ткань, происходит окисление ксантина и накопление большого количества супероксид-аниона ($O_2^{\cdot -}$) [10]. Активация NO -синтазы обуславливает избыточную продукцию радикала $NO^{\cdot}$. В результате создаются условия для образования пероксинитрита ($ONOO^{\cdot}$) (см. 6-ю реакцию), что стимулирует генерацию гидроксил-радикалов и способствует нитрированию тирозиновых радикалов белков.

Свободные радикалы индуцируют реакции белков с другими компонентами клетки, вызывая фрагментацию белковых молекул и нарушение их функций [48]. В то же время в условиях свободнорадикальной атаки мембранные белки страдают не только от прямой химической модификации, но и от нарушения «липидного окружения» вследствие процессов ПОЛ [68, 125, 162].

Миграция фагоцитов в область ишемического повреждения приводит к концентрации в ней миелопероксидазы, которая при наличии своего суб-

страта гидропероксида способна быстро вырабатывать гипохлорит-анион. Непосредственной мишенью гипохлорит-аниона, являющегося сильным окислителем, служат тиоловые соединения, *SH*-группы, а также белки и липиды, содержащие *NH₂*-группы. Промежуточные продукты этих превращений являются токсичными.

Модифицированные липиды клеточных мембран способны индуцировать апоптоз (см. главу 10). Их действие может быть связано с изменением содержания цитозольного кальция, опосредующего действие активных форм кислорода на различные сигналопередающие системы, а также с прямым влиянием на экспрессию генов, участвующих в программированной клеточной смерти [169]. Высказано предположение, что механизмы, связанные с повреждающим действием активных форм кислорода, эволюционно закреплены и используются клеткой для осуществления программы апоптоза. Уже найдены гены, имеющие отношение к регуляции редокс-состояния клетки, балансу генераторов активных форм кислорода и антиоксидантных защитных механизмов. Экспрессия гена «защитника» *bcl-2* предотвращает апоптоз, вызванный различными прооксидантными индукторами.

Все больший интерес привлекает участие в механизмах клеточной ишемии мозга свободнорадикального соединения оксида азота (*NO*), являющегося полифункциональным физиологическим регулятором [17, 170].

NO принято считать первым представителем нового семейства сигнальных молекул со свойствами нейротрансмиттера [17, 205], который в отличие от традиционных нейротрансмиттеров не рециркулирует в синаптических везикулах нервных окончаний и высвобождается в синаптическую щель путем свободной диффузии, а не по механизму захвата. Молекула *NO* синтезируется в ответ на физиологическую потребность ферментом *NO*-синтазой (*NOS*) из его метаболического предшественника — аминокислоты *L*-аргинина. Свойство *NO* вызывать биологический эффект в большой степени определяется малой величиной его молекулы, ее высокой реактивностью и способностью к диффузии в ткани, в том числе нервной [14]. Это послужило основанием назвать *NO* регулируемым мессенджером [66, 69].

Кальций-кальмодулин-зависимость тканевой изоформы *NOS* обуславливает усиление синтеза *NO* при нарастании уровня внутриклеточных ионов Ca^{2+} . Поэтому любые процессы, ведущие к накоплению ионов Ca^{2+} в клетке (энергетический дефицит, изменения активного ионного транспорта, глутаматная «токсичность», оксидантный стресс), сопровождаются повышением уровня *NO* [13, 205].

Понятно, что *NO* оказывает модулирующее влияние на синаптическую передачу [173], на функциональное состояние глутаматных *NMDA* рецепторов [57]. Активируя растворимую гемсодержащую гуанилатциклазу и *ADP*-рибозил-циклизацию, *NO* участвует в регуляции внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} [16], вовлекается в регулирование *pH* на фоне церебральной ишемии [194].

Возбуждение *NMDA* рецепторов приводит к активации *NOS* и повышенному высвобождению *NO*. В настоящее время нет однозначного мнения о роли оксида азота в механизме токсического действия глутамата. По мнению Е.Г. Сорокиной с соавт. [21], Л.Г. Хаспекова с соавт. [23], С.С. Wilcox [238], С.Е. Wright [241], *NO* участвует в повреждении нейронов. Его токсическое действие связано с нарушением митохондриального окислительного фосфорилирования и метаболизма рибонуклеотидредуктазы, образованием свободнорадикального соединения пероксинитрит-аниона, которое блокирует ряд нейрональных рецепторов, инактивирует фермент су-

перокси́ддисмута́зу и вызывает углубление свободнорадикального окисления, приводящего к гибели клетки. Кроме того, пероксинитрит способен тормозить тирозинкиназу, входящую в активный центр нейротрофических факторов, увеличивая степень недостаточности трофического обеспечения мозга [123]. Механизм токсичности NO^* включает в себя ковалентную модификацию белков при взаимодействии с их тиоловыми группами, а также непосредственное повреждение ДНК.

В то же время J. Ravindran с соавт. [193], S. Takizawa с соавт. [224] считают, что NO^* , активируя растворимую гемсодержащую гуанилатциклазу, повышая синтез циклического гуанозинмонофосфата (*cGMP*), влияя на железосодержащие компоненты дыхательной цепи митохондрий, может защищать нейроны при токсическом воздействии глутамата.

Формирование нитрозоаниона-иона NO^* , связывающего регуляторный центр *NMDA* рецепторов, уменьшает их возбудимость и «эксайтотоксические» явления, снижает чувствительность к действию агонистов. Возможна ретроградная блокада *NMDA* рецепторов [148].

Экспериментальные работы Н. Кяпий с соавт. [121] с местным подавлением нейронного NO^* выявили уменьшение размера ишемического повреждения ткани мозга. При угнетении и нейронного и эндотелиального оксида азота отмечалось снижение кровотока и спазма мозговых сосудов.

Исследования многих авторов [35, 98, 147, 226, 240] показали, что при острой церебральной ишемии NO^* улучшает кровоснабжение мозга за счет вазодилатации, снижения агрегации тромбоцитов и пластиночной адгезии нейтрофилов, подавляет активность *NMDA* рецепторов и снижает «эксайтотоксический» эффект глутамата. Однако при реперфузии преобладает повреждающий эффект NO^* , усугубляющий процессы разрушения умирающих клеток. Таким образом проявляется двойственная природа NO^* , присущая многим природным модуляторам. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют, чтоprotective и поражающие свойства NO^* зависят от его внутриклеточной концентрации.

По-видимому, как свободные радикалы, так и антиоксиданты выполняют функции модуляторов, проявляя своеобразные эффекты в зависимости от условий внеклеточной среды. Известно, что, являясь выраженными ингибиторами свободнорадикального окисления в высоких концентрациях, глутатин, аскорбиновая кислота и карнозин способны оказывать прооксидантный эффект при изменении их концентраций.

4.3.1. Содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов, супероксиддисмута́зы, *cGMP* и *N*-ацетилнейраминовой кислоты в цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом

Для уточнения значимости реакций оксидантного стресса в развитии острой фокальной ишемии мозга у человека нами совместно с сотрудниками Научно-исследовательского института фармакологии РАМН (К.С. Раевский, В.Г. Башкитова, А.И. Лыско) проведено исследование вторичных продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП), и антиоксидантного фермента супероксиддисмута́зы (СОД) в цереброспинальной жидкости 50 больных (27 мужчин и 23 женщины, средний возраст — 65,1 года). Больные поступили в ней-

рореанимационное отделение в первые 6 ч с момента развития ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии и получали комплекс максимально унифицированной терапии без включения нейропротекторов [96]. Вадупчим этиологическим фактором заболевания явился атеросклероз (92 %) и его сочетание с гипертонической болезнью (74 %) и сахарным диабетом (6 %). У 37 (74 %) больных инсульт развивался по атеротромботическому типу, у 12 (24 %) — по кардиоэмболическому, у 1 (2 %) больного — по гемодинамическому типу на фоне полной поперечной блокады сердца. Микроциркуляторных (лакунарных) инсультов зарегистрировано не было.

Исследование ТБКРП проводили спектрофотометрическим методом [174]. К взвешенному образцу ткани мозга добавляли 10-кратное количество окисленного изотонического раствора хлорида натрия, затем гомогенизировали в гомогенизаторе «стекло-тефлон» (0,2 мм) при скорости вращения 3000 об/мин. Из полученной взвеси отбирали 200 мкл гомогената и помещали в пробирку с притертой пробкой. Контрольная проба содержала 200 мкл изотонического раствора хлорида натрия. К пробам последовательно добавляли 0,2 мл 45 % раствора додецилсульфата натрия, по 1,5 мл 20 % уксусной кислоты и 8 % раствора тиобитуритуровой кислоты, а затем доводили объем каждой пробы до 4 мл дистиллированной водой. После охлаждения инкубировали реакционную смесь на водяной бане при температуре 95 °C в течение 60 мин, после чего пробы охлаждали и центрифугировали в течение 10 мин при 4000 об/мин в центрифуге К-70. Оптическую плотность полученных образцов определяли на спектрофотометре «Amica» (США) при длине волны 532 нм.

Определение СОД в цереброспинальной жидкости проводили по методу Beauchamp и Fridovich (1971). Использовали нитротетразолиновый синий в качестве детектора супероксидного аниона, генерируемого системой квантин-ксантиноксидазы. Нитротетразолиновый синий конкурирует с супероксидным анионом с присутствующей в среде супероксиддисмутазой, при этом происходит его восстановление, наблюдаемое по нарастанию во времени пика в спектре поглощения при 560 нм. Скорость этого нарастания зависит от концентрации СОД, присутствующей в среде.

Содержание ТБКРП и СОД в цереброспинальной жидкости определяли при поступлении в клинику (первые 6 ч после развития инсульта) и на 3-и сутки. За норму были приняты показатели, полученные при проведении перидуральной анестезии у больных с хронической ортопедической патологией, не имевших изменений со стороны ЦНС, системных заболеваний и нарушений терморегуляции (контрольная группа). Контрольный уровень ТБКРП составлял $11 \pm 0,17$ нмоль/мл, СОД — $1,3 \pm 0,4$ мкг/л.

У всех обследованных больных с ишемическим инсультом выявлено повышение содержания ТБКРП уже через 3–6 ч после появления первых симптомов заболевания ($p < 0,01$; табл. 4.3; рис. 4.10). Достоверных различий данного показателя в зависимости от тяжести, локализации и патогенетического варианта инсульта в 1-е сутки инсульта не обнаружено. К 3-м суткам увеличение уровня ТБКРП было более выражено и достоверно в группе больных с тяжелыми инсультами (суммарный клинический балл по шкалам Оргозо и оригинальной — соответственно 25–39 и 30–35), чем у больных с инсультами средней тяжести (суммарный клинический балл более 40 и 36; $p < 0,05$).

Клинико-биохимический анализ выявил обратную корреляционную связь между динамикой прироста суммарного клинического балла, отражающего степень восстановительных процессов, и содержанием вторичных продуктов ПОЛ в цереброспинальной жидкости ($r = -0,45$). При прогрессивном течении инсульта с усилением общемозговых и очаговых неврологических нарушений отмечались наиболее высокие концентрации ТБКРП

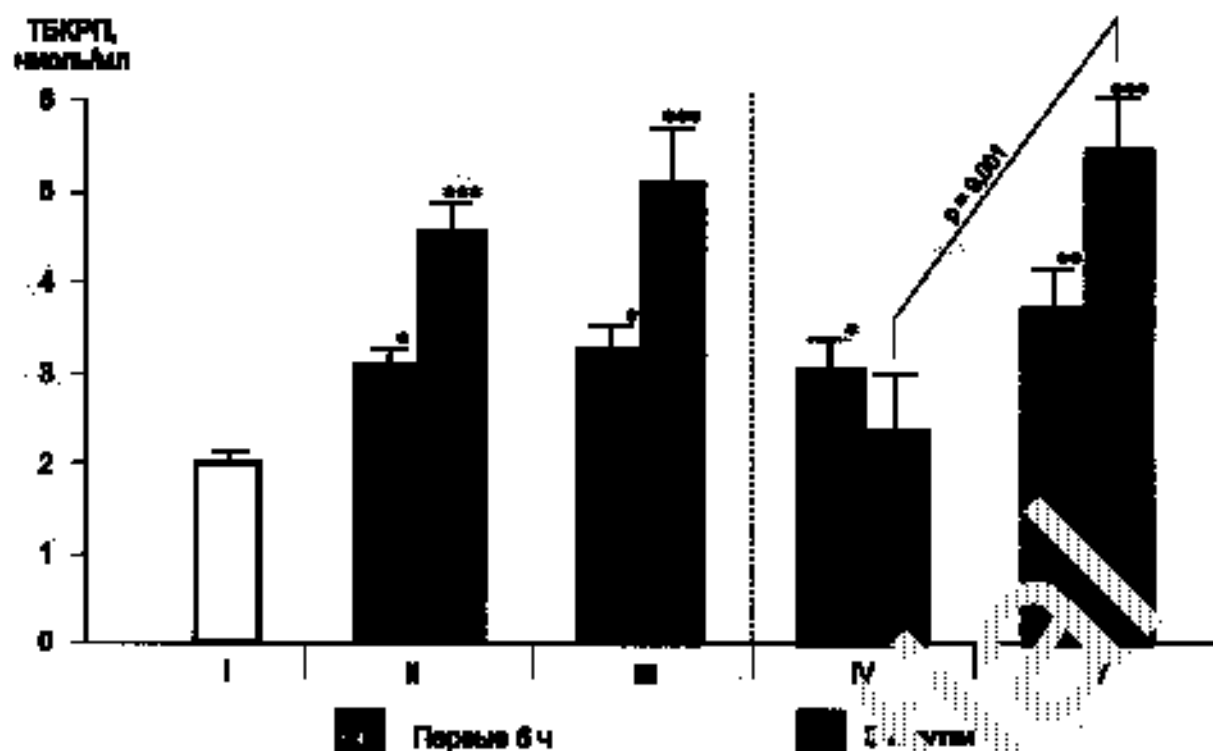


Рис. 4.10. Содержание вторичных продуктов ПОЛ (ТБКРП) в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

I — контроль; II — состояние средней тяжести; III — тяжелое состояние; IV — хорошее восстановление; V — тяжелая инвалидизация. * — достоверность различий с контролем: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,001$, *** — $p < 0,0001$.

на 3-и сутки ($5,18 \pm 0,42$ нмоль/мл) по сравнению с $4,03 \pm 0,14$ нмоль/мл при регрессирующем течении; $p < 0,01$ (см. табл. 4.3 и рис. 4.10).

Особенно значимой была зависимость уровня ТБКРП от клинического исхода инсульта к концу этого периода (21-е сутки). При хорошем восстановлении нарушенных функций (индекс Бартела 75—100) не только не определялось увеличения концентрации ТБКРП к 3-м суткам, но отмечалось ее снижение на 2,1 % (см. табл. 4.3 и рис. 4.10). У тяжелоинвалидизированных больных (индекс Бартела 0—45) прирост ТБКРП был максимальным (на 49,6 % — до $5,47 \pm 0,55$ нмоль/мл; $p < 0,001$ по сравнению с показателями в группе больных с хорошим функциональным восстановлением).

Сопоставление содержания вторичных продуктов ПОЛ в цереброспинальной жидкости с размерами ишемического очага (по данным КТ и МРТ головного мозга) в 1-е сутки инсульта не выявило корреляций. Однако была установлена прямая зависимость между размерами сформированного к 5—7-м суткам инфаркта мозга и динамикой концентрации ТБКРП в период с 1-х до 3-х суток ($r = 0,45$): максимальному приросту ТБКРП (до $5,47 \pm 0,73$ нмоль/мл) соответствовали наибольшие размеры инфаркта ($29,7 \pm 1,6$ см³). Снижение уровня ТБКРП сопровождалось сокращением размеров ишемизированной области.

Таким образом, исследование вторичных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, подтвердило роль перекисного окисления в механизмах развития острой фокальной ишемии мозга и формирования инфарктных повреждений; установило корреляцию его вы-

Таблица 4.3. Содержание вторичных продуктов ПОЛ (ТБКРП) (в нмоль на 1 мл) в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом

Состояние больных:			
средней тяжести	$3,04 \pm 0,30$	$4,56 \pm 0,44^*$	49,7
тяжелое	$3,27 \pm 0,38$	$5,10 \pm 0,64^{**}$	56,0
<i>p</i>	0,04	0,02	
Течение заболевания:			
регрессивное	$3,14 \pm 0,31$	$4,03 \pm 0,14^*$	28,34
прогрессивное	$3,54 \pm 0,36$	$5,18 \pm 0,42^{**}$	46,33
<i>p</i>	0,006	0,001	
Функциональное восстановление:			
хорошее (<i>BI</i> > 75)	$3,03 \pm 0,44$	$2,36 \pm 0,65^{**}$	22,11
тяжелая инвалидизация (<i>BI</i> < 45)	$3,67 \pm 0,47$	$5,47 \pm 0,55^{**}$	49,05
<i>p</i>	0,01	< 0,001	

Примечания. 1. Достоверность различий по сравнению с контролем исследования: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,001$. 2. *BI* — индекс Бартола.

раженности с тяжестью ишемического инсульта, вариантами течения и исхода инсульта. Последовательное и регрессивное содержание ТБКРП в течение первых дней заболевания и более высокая прогностическая значимость их уровня на 3-и сутки, тем самым, дают сохраняющуюся активность процессов оксидантного процесса за пределами «терапевтического окна», что, возможно, отчасти играет роль в «доформировании» инфаркта мозга.

Изучение содержания СОД установило достоверное увеличение ее концентрации в цереброспинальной жидкости у всех больных в 1-е сутки развития инсульта, более выраженное в группах пациентов с тяжелым и крайне тяжелым состоянием ($p < 0,001-0,006$ по сравнению с инсультом средней тяжести; табл. 4.4 (рис. 4.11)). Коэффициент корреляции между концентрацией СОД и суммарным клиническим баллом составил $-0,32$ (рис. 4.12). Зависимость показателя СОД от варианта развития и локализации ишемии выявлена не была.

Изменения концентрации СОД к 3-м суткам заболевания прямо коррелировали с положительной клинической динамикой и степенью регресса очагового неврологического дефицита (по шкалам Оргозоу и оригинальной) к 21-м суткам после инсульта ($r = 0,47$): чем выраженнее были восстановительные процессы, тем больше прирост СОД (рис. 4.13). При регрессивном течении инсульта средней тяжести (суммарный клинический балл по шкалам Оргозоу и оригинальной более 40 и 36 соответственно) концентрация СОД возросла к 3-м суткам на 68,5 %; прогрессивное течение инсульта у тяжелобольных сопровождалось ее снижением на 42,2 % (см. табл. 4.4 и рис. 4.11).

Ретроспективный анализ динамики СОД в зависимости от клинического исхода инсульта к 21-м суткам также установил, что хорошему восстановлению функций соответствовало максимальное повышение уровня

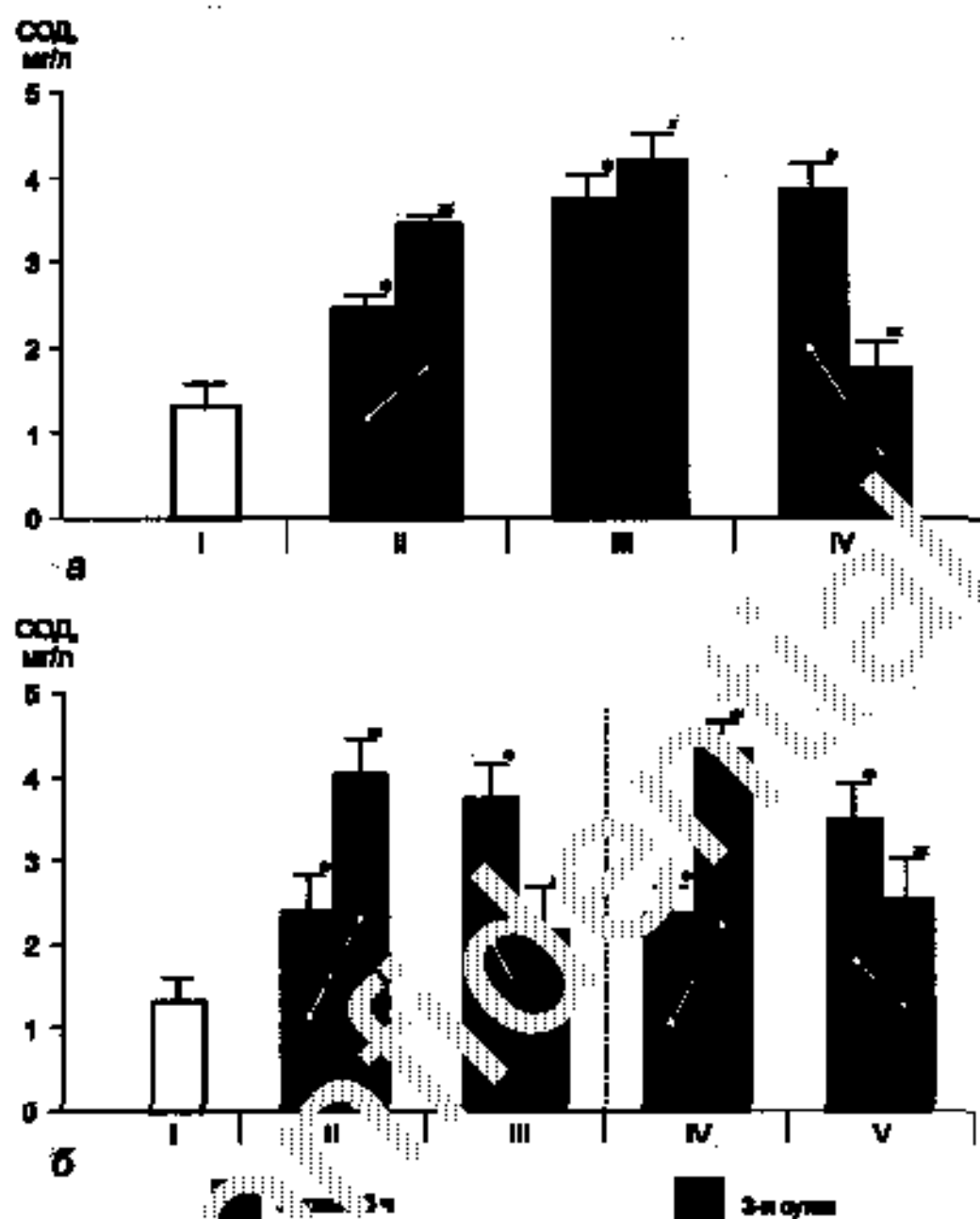


Рис. 4.11. Содержание СОД в цереброспинальной жидкости больных с каротидным и эмическим инсультом в зависимости от тяжести состояния (а), течения заболевания и степени функционального восстановления на 21-е сутки (б).

а: I — контроль; II — состояние средней тяжести; III — тяжелое состояние; IV — крайне тяжелое состояние; б: I — контроль; II — ретроградное течение инсульта; III — прогрессивное течение инсульта; IV — хорошее восстановление; V — тяжелая инвалидизация. Линейной гистограммой показана динамика содержания СОД. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0,0001$; достоверность различий по сравнению с показателями в первые 8 ч: х — $p < 0,05$, хх — $p < 0,001$.

СОД (на 86 %), тогда как при формировании тяжелой инвалидизации отмечалось снижение ее концентрации на 33,3 % (см. табл. 4.4 и рис. 4.11).

При сравнении содержания СОД и вторичных продуктов ПОЛ (ТЕКРП) выявлена обратная корреляция их динамики ($r = -0,36$; рис. 4.14).

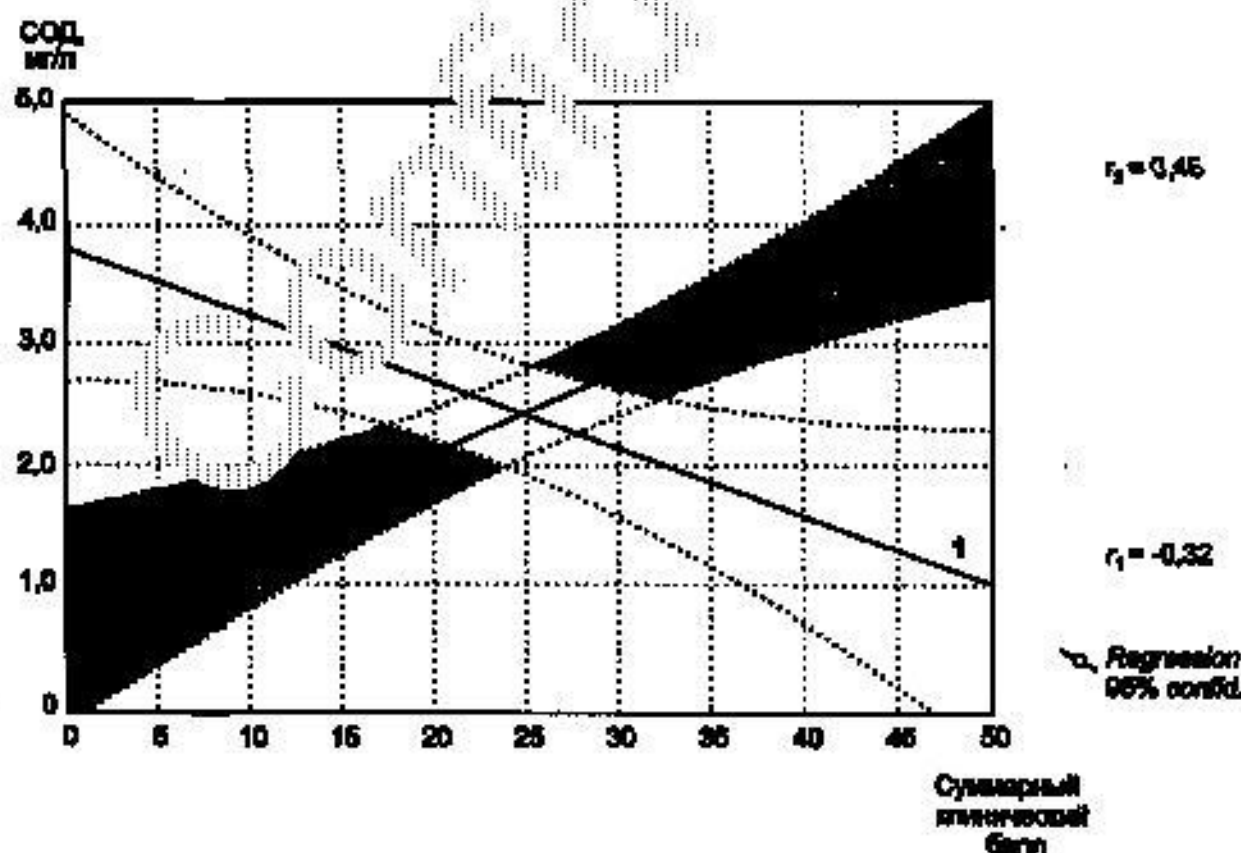
Таблица 4.4. Содержание СОД (в миллиграммах на 1 л) в цереброспинальной жидкости больных с кистозным шизофреническим инсультом

Состояние больных:			
средней тяжести	$2,45 \pm 0,24$	$3,44 \pm 0,15^{**}$	40,4
тяжелое	$3,72 \pm 0,66$	$4,18 \pm 0,45^{*}$	12,4
крайней тяжести	$3,82 \pm 0,45$	$1,75 \pm 0,42^{**}$	-55,0
P_{1-2}	0,006	0,005	
P_{1-3}	0,001	0,0001	
P_{2-3}	$> 0,05$	0,0001	

Течение заболевания:			
регрессивное	$2,38 \pm 0,64$	$4,01 \pm 0,64^{**}$	68,58
прогрессивное	$3,74 \pm 0,63$	$2,16 \pm 0,76^{**}$	-42,2
P	0,001	0,0006	

Функциональное восстановление:			
хорошее ($BI > 75$)	$2,35 \pm 0,42$	$4,37 \pm 0,47^{**}$	86,0
тяжелая инвалидизация ($BI < 45$)	$3,48 \pm 0,57$	$2,32 \pm 0,61^{*}$	-33,3
P	0,001	0,0001	

Примечания. 1. Достоверность различий по сравнению с первым исследованием: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$. 2. BI — индекс Барталя.



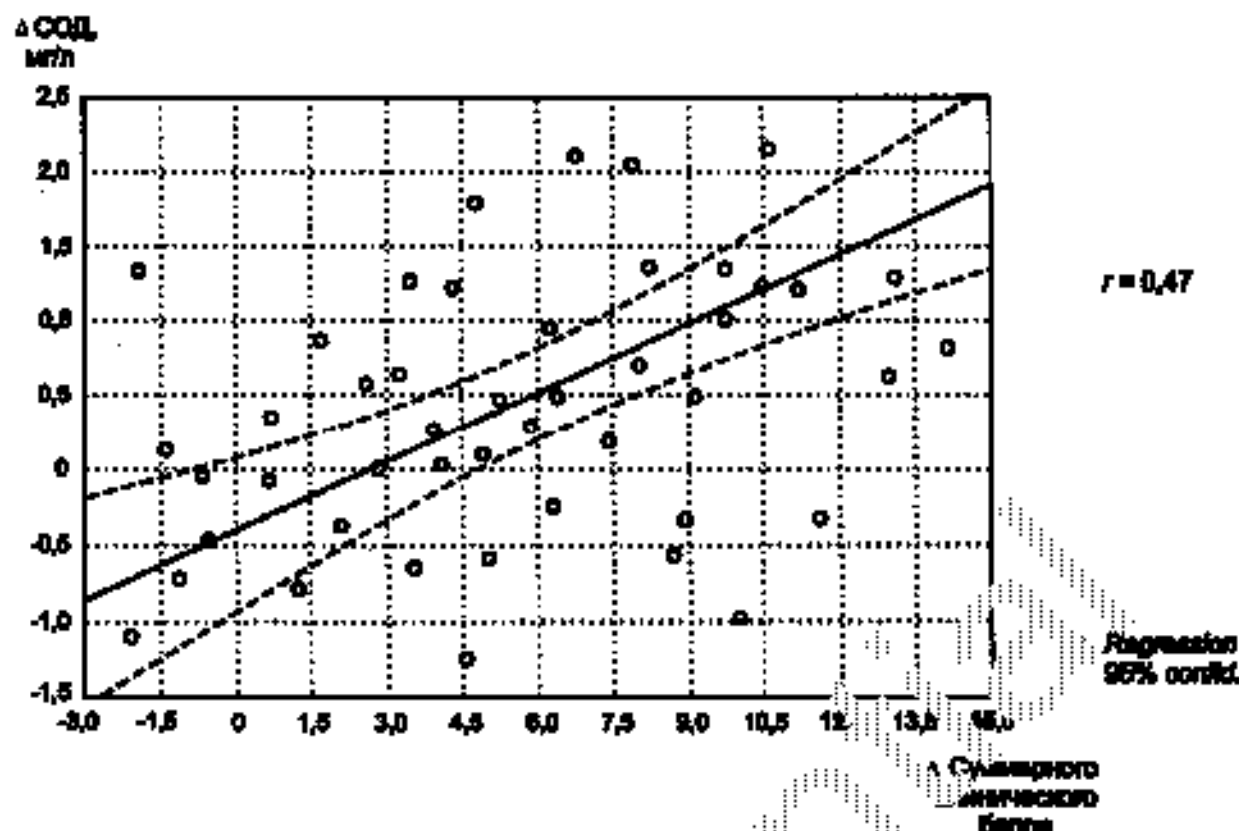


Рис. 4.13. Корреляционная зависимость между динамикой содержания СОД в цереброспинальной жидкости больных к 1-м суткам и приростом суммарного клинического балла (по оригинальной работе [12] к 1-м суткам после развития каротидного ишемического инсульта).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало активацию антиоксидантной системы супероксиддисмутазы в остром периоде ишемического инсульта. Установленные прямая корреляция между повышением уровня СОД и выраженностью восстановительных процессов, а также обратная корреляция между динамикой концентраций СОД и ТБКРП подчеркивают компенсаторную, защитную функцию СОД и ее роль в организации механизмов ишемического каскада. Снижение содержания СОД к 3-м суткам при тяжелых формах инсульта указывает на значимость быстрой истощаемости естественных антиоксидантных систем в реализации повреждающего потенциала оксидантного стресса.

В настоящее время механизмы внутриклеточной регуляции через системы «вторичных посредников» (мессенджеров) продемонстрированы практически для всех рецепторных структур, в том числе глутаматных. Оказалось, что для глутаматных рецепторов регуляторную роль играют циклический гуанозинмонофосфат (*cGMP*) и ионы Ca^{2+} [12, 39, 89]. Значение метаболизма *cGMP* в глутаматной нейротрансмиссии подчеркива-

Рис. 4.12. Корреляционная зависимость между содержанием СОД в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом в системе внутренней сонной артерии и суммарным клиническим баллом в 1-е (1) и на 3-и (2) сутки заболевания.

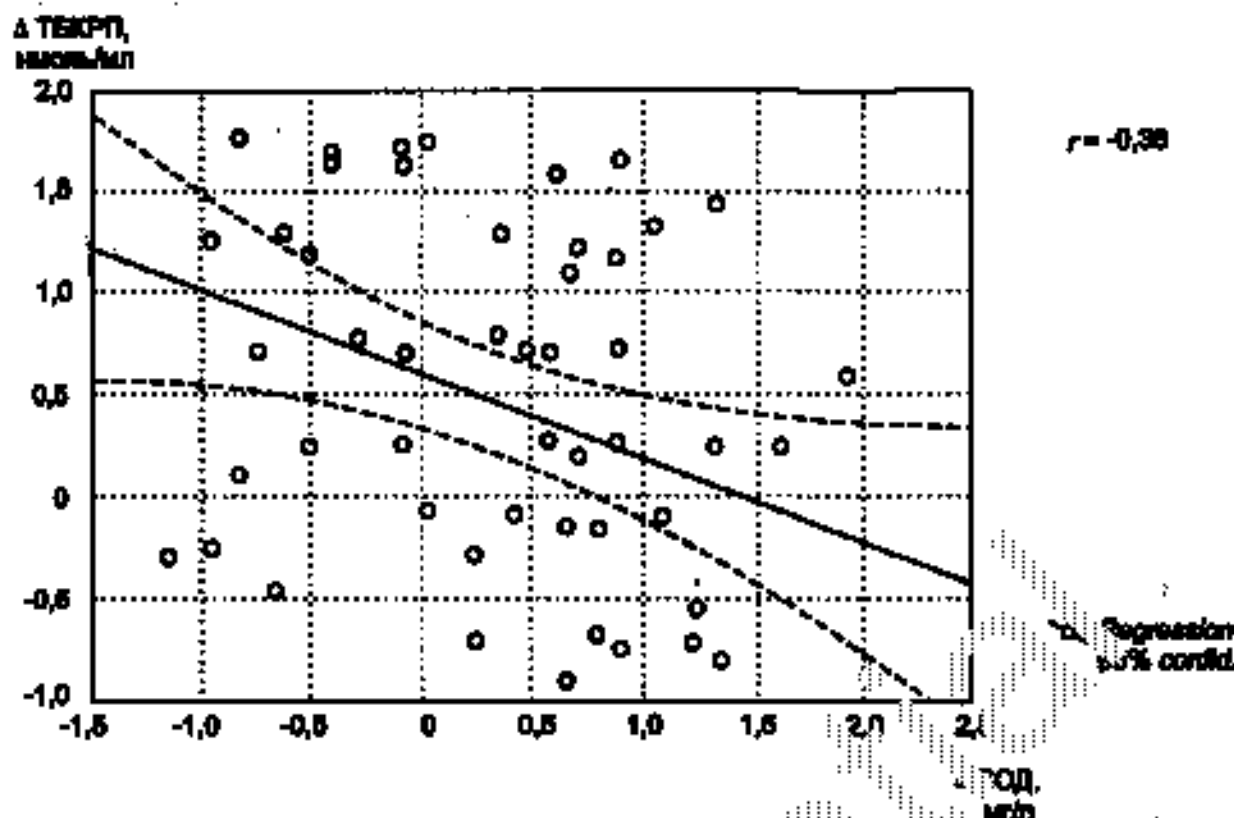


Рис. 4.14. Корреляционная зависимость между содержанием вторичных продуктов ПОЛ (ТЕКРП) и СОД в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

ется возможностью внесистематической локализации глутаматных рецепторов по определению флуоресцентной чувствительной гуанилатциклазы, входящей в систему быстрого транспорта глутамата вне синапса [89].

Взаимодействие NO с гуанилатциклазой приводит к активации этого фермента и увеличению продукции $cGMP$ [66], участвующего в интеграции электрических и метаболических процессов на мембране нейронов; регуляции кальциевого цикла через агонист-зависимые каналы $NMDA$ рецепторов и содержания ионов Ca^{2+} в клетках; активации $cGMP$ -зависимых протеинкиназ, катализирующих фосфорилирование многих белковых субстратов [12, 21, 66].

Таким образом, $cGMP$ участвует в реализации основополагающих механизмов глутамат-кальциевого каскада: глутаматной «эксайтотоксичности», накопления внутриклеточных ионов Ca^{2+} , оксидантного стресса с избыточным синтезом NO , что позволяет использовать его определение для косвенной оценки состояния системы оксида азота и сопряженного глутамат-кальциевого метаболизма. В связи с этим наряду с исследованием вторичных продуктов ПОЛ и СОД нами совместно с сотрудниками лаборатории мембранологии Научного центра здоровья детей РАМН (В.Г. Пинелис и др.) проведено исследование $cGMP$ в цереброспинальной жидкости 50 больных с острым каротидным ишемическим инсультом (см. ранее) методом стандартного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). За норму был принят средний показатель в контрольной группе ($15,47 \pm 8,81$ пмоль/мл).

Уже в первые 3—6 ч после развития инсульта у всех обследованных больных наблюдалось достоверное повышение содержания *cGMP* (табл. 4.5; рис. 4.15). Оно было значительно выраженнее у больных с тяжелыми (на 186,1 %) и крайне тяжелыми (на 186,9 %) инсультами, чем в группе больных с инсультами средней тяжести (на 66,8 %; $p < 0,001$).

Таблица 4.5. Содержание *cGMP* (в пикомолях на 1 мл) в cerebrospinalной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом

Состояние больных:			
средней тяжести	25,8±6,70	68,12±8,46 *	163,9
тяжелые	44,26±12,47	116,42±17,40 *	163,0
крайней тяжести	43,38±14,15	130,25±28,17 *	169,2
P_{1-2}	0,001	< 0,0001	
P_{1-3}	< 0,001	< 0,0001	
P_{2-3}	> 0,05	> 0,05	
Течение заболевания:			
регрессирующее	29,62±4,28	43,36±5,72 *	46,4
прогрессирующее	48,61±7,96	124,12±12,17 *	158,9
P	< 0,001	< 0,0001	
Функциональное восстановление:			
хорошее ($BI > 75$)	27,56±4,91	44,18±6,73 *	63,9
тяжелая инвалидизация ($BI < 45$)	59,16±7,91	105,21±14,73 *	130,2
P	< 0,001	< 0,0001	

Примечания. 1. Достоверно отличается от исходного значения с первым исследованием: * — $p < 0,001$. 2. BI — индекс Бартеда.

К 3-м суткам заболевания уровень *cGMP* продолжал нарастать (в среднем на 165—167 %), достигая при тяжелых и крайне тяжелых инсультах 116—130 пмоль/мл.

Степень прироста концентрации *cGMP* коррелировала отрицательно с выраженностью клинической динамики инсульта ($r = -0,57$; рис. 4.16), его исходом к 21-е сутки ($r = -0,45$) и положительно с нарастанием концентрации вторичных продуктов ПОЛ ($r = 0,76$; рис. 4.17). При наиболее благоприятных вариантах заболевания с хорошим восстановлением функции содержание *cGMP* в cerebrospinalной жидкости увеличивалось к 3-м суткам на 46,4—63,9 %; прогрессирующее течение с формированием тяжелого инвалидизирующего дефекта сопровождалось повышением его уровня на 158—167 % ($p < 0,001$).

Как и при оценке ТБКРП, была выявлена прямая зависимость между приростом концентрации *cGMP* к 3-м суткам и размерами инфаркта мозга на 5—7-е сутки заболевания ($r = 0,47$).

Тесная корреляция между изменениями *cGMP*, вторичных продуктов ПОЛ, тяжестью ишемического инсульта и размерами очага инфаркта дополнительно подтверждает активное участие нарушений глутаматной нейротрансмиссии и процессов оксидантного стресса, в том числе связанных с избыточным синтезом *NO*, в механизмах острой церебральной ишемии, ве-

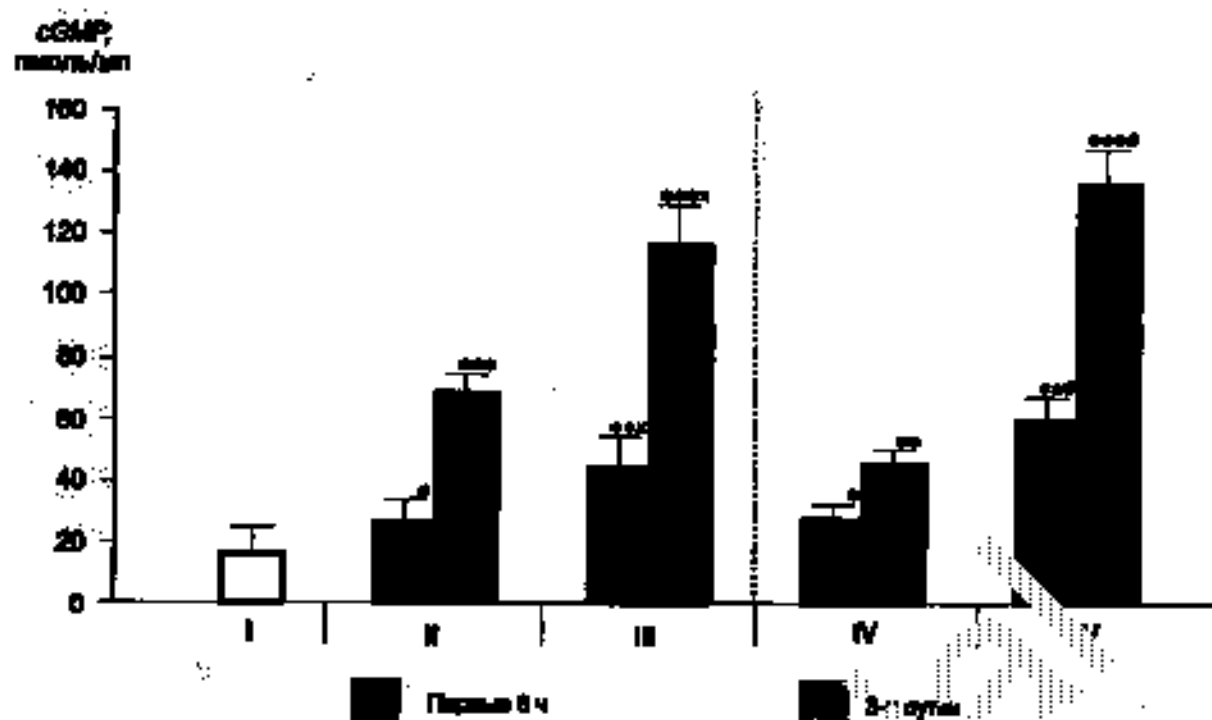


Рис. 4.15. Содержание cGMP в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

I — контроль; II — состояние средней тяжести; III — тяжелое состояние; IV — хорошее восстановление; V — тяжелая инвалидизация. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,001$, *** — $p < 0,0001$; достоверность различий между группами больных с состоянием средней тяжести и тяжелым: х — $p = 0,01$; достоверность различий между группами больных с хорошим восстановлением и тяжелой инвалидизацией: # — $p = 0,001$.

дущих к трансформации образцы метаболических изменений в ткани мозга в стойкий морфологический дефект.

Безусловно, динамика очага инфаркта может быть объективизирована и оценена морфометрическими методами нейровизуализации (КТ и МРТ головного мозга). Однако представляет особый интерес верификация некротического компонента в инфарктных изменениях.

Известны характерные морфологические различия процессов некроза и апоптоза (см. главу 10), обязательность деструкции нейронных мембран при некротической смерти клетки. В связи с этим в качестве биохимического маркера некротического повреждения использовали содержание *N*-ацетилтираминной кислоты [12].

N-ацетилтирамидная кислота (НАНК) входит в состав ганглиозидов, относящихся к классу гликофинколипидов, являющихся одним из основных компонентов нейронных мембран, особенно синаптических (61 %), и участвующих во всех основных функциях нейрона и межнейронном взаимодействии (синаптогенез, регуляция ионного микроокружения, мембранный электрогенез, медиация и др.) [18]. Повышение уровня НАНК в

Рис. 4.17. Корреляционная зависимость между динамикой содержания cGMP и вторичных продуктов ПОЛ (ТБКРП) в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

$\Delta cGMP$,
пмоль/мл

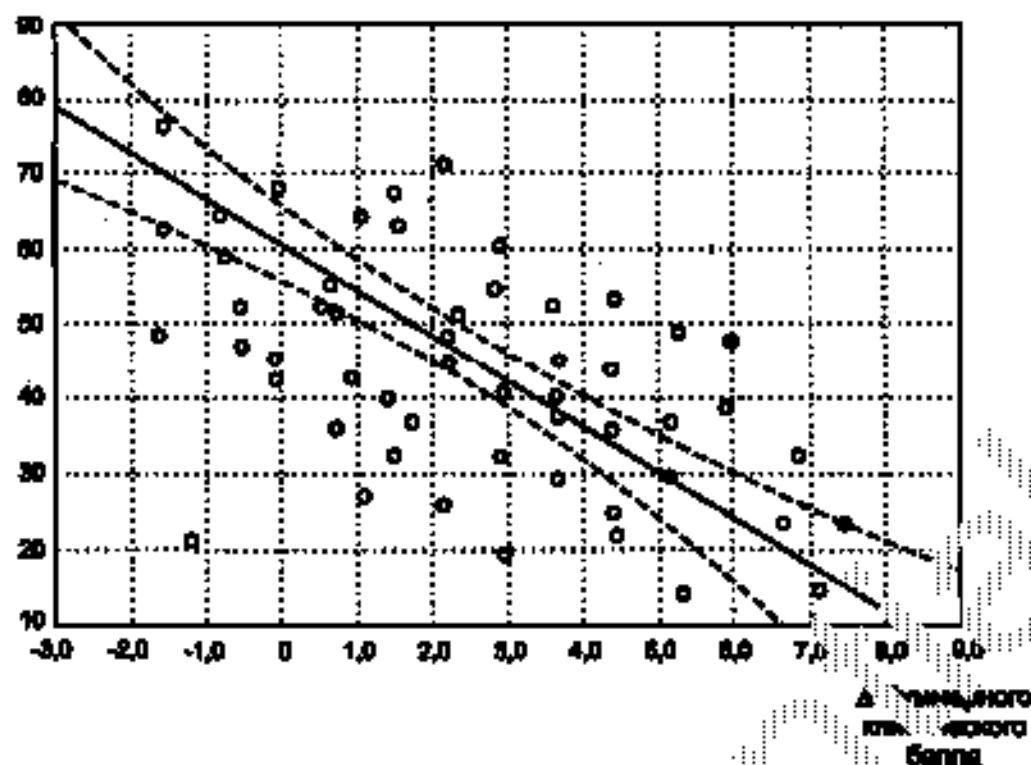
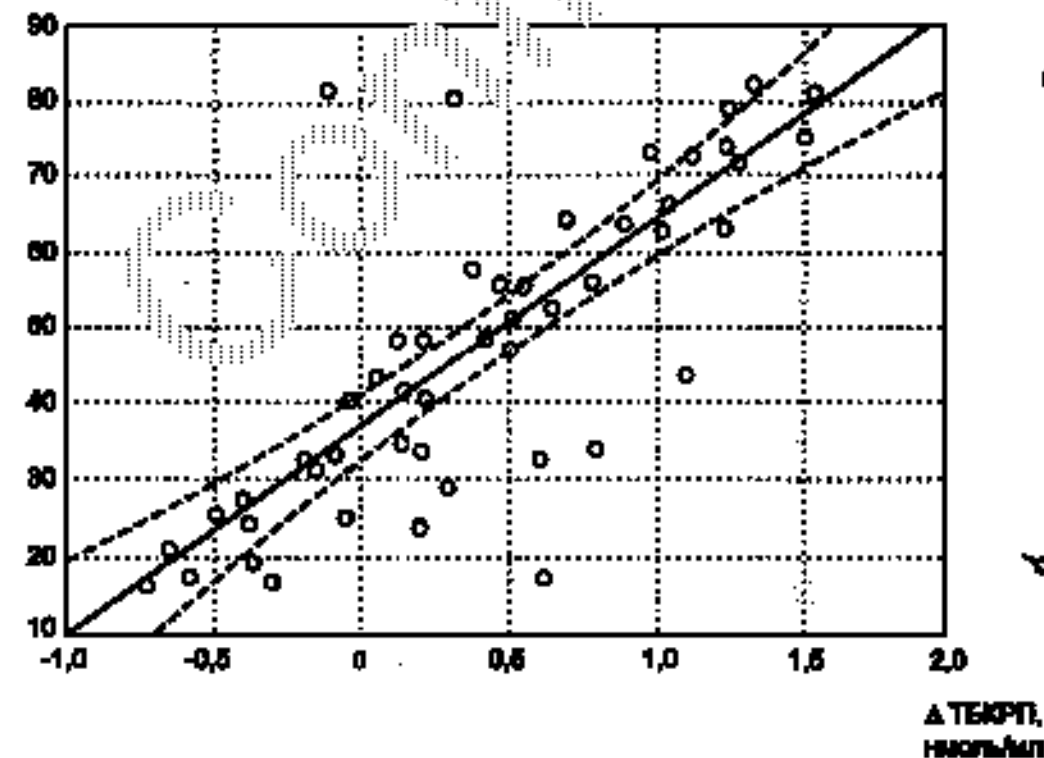


Рис. 4.16. Корреляционная зависимость между уровнем концентрации cGMP в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам и уровнем суммарного клинического балла (по оригинальной шкале) к 7-м суткам после развития каротидного ишемического инсульта.

$\Delta cGMP$,
пмоль/мл



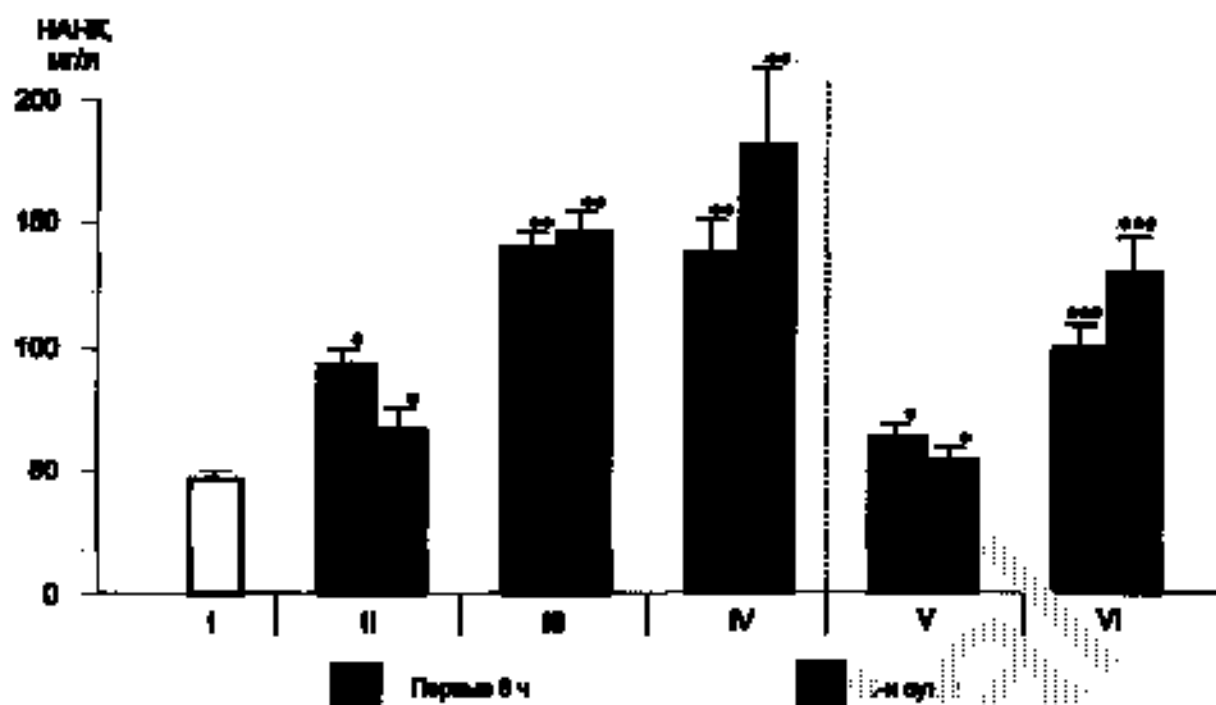


Рис. 4.18. Содержание HANE в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

I — контроль; II — состояние средней тяжести; III — тяжелое состояние; IV — состояние крайней тяжести; V — хорошее восстановление; VI — полная валидизация. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0,001$, ** — $p < 0,0001$, достоверность различий между группами больных с хорошим восстановлением и полной валидизацией в первые 6 ч и на 3-й сутки: # — $p = 0,0001$.

биологических жидкостях отражает процессы разрушения мембранных структур мозговой ткани [11].

Совместно с сотрудниками лаборатории мембранологии Научного центра здоровья детей РАМН (В.И. Пинелис и др.) нами проведено определение *N*-ацетилнейрамина (НАН) в цереброспинальной жидкости 50 больных с острым каротидным ишемическим инсультом.

При нагревании глицероидов плазмы с трихлоруксусной кислотой отщепляются сигнальные слои, которые в свою очередь гидролизуются с образованием свободных амина, уксусной и уксусной кислот. Резорцин в присутствии солей меди дает с не рафинированной кислотой синее окрашивание.

К 0,5 мл цереброспинальной жидкости добавляли 0,5 мл 5 % раствора трихлоруксусной кислоты и ставили на 7 мин на кипящую водяную баню для гидролиза, затем охладили и фильтровали через бумажный фильтр. К 0,5 мл прозрачного фильтрата добавляли 0,5 мл воды и 1 мл резорцинового реактива, закрывали стеклянными пробками и ставили на кипящую водяную баню еще на 15 мин. После охлаждения добавляли 3 мл экстрагирующего реактива, встряхивали и оставляли на 15 мин для расслоения фаз. Окрашенная фаза переходила в верхний слой, после чего ее отсасывали и фотометрировали при длине волны 575–590 нм в кювете с длиной оптического пути 0,5 см против холостого опыта, при постановке которого к 1 мл воды добавляли 1 мл резорцинового реактива (остальные продукты те же, что и в основном опыте). Для построения калибровочного графика брали по 1 мл калибровочных растворов, приготовленных согласно таблице, добавляли по 1 мл резорцинового реактива и обрабатывали так же, как в основном опыте. Расчет проводили по калибровочному графику.

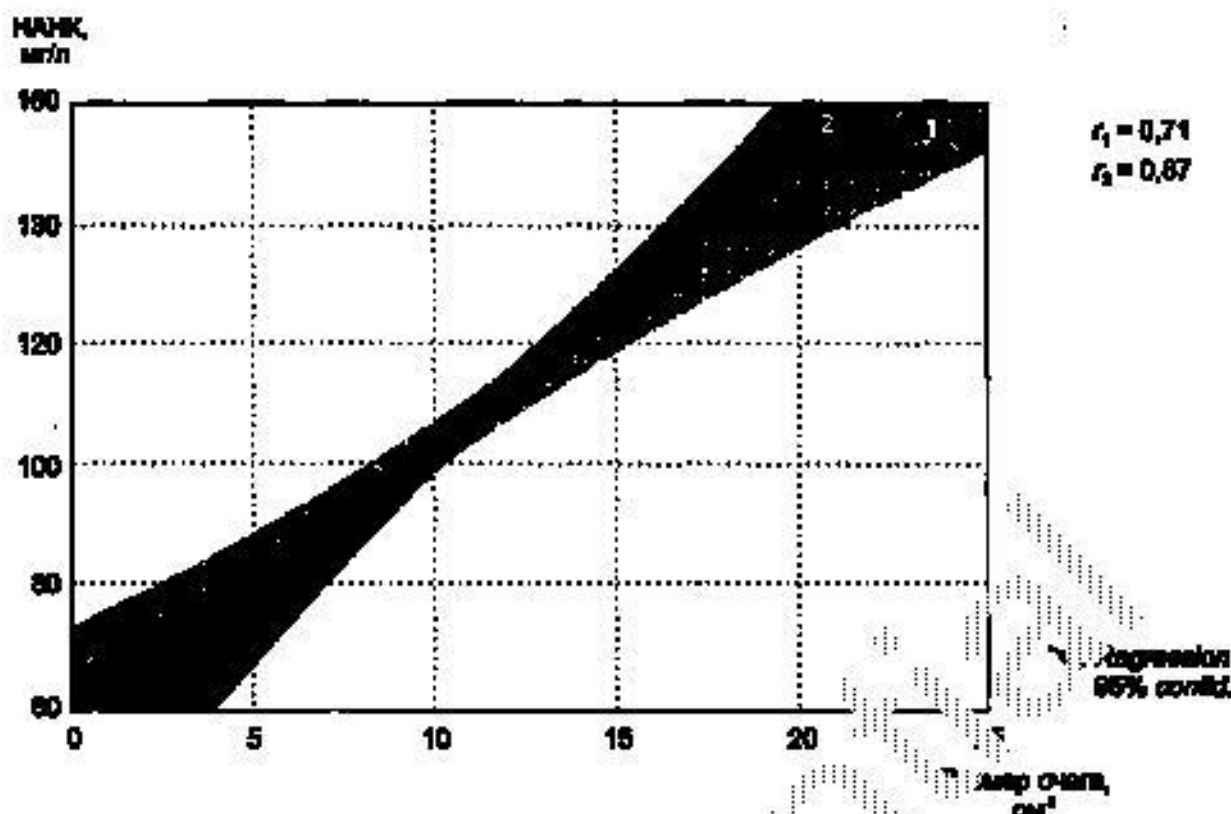


Рис. 4.19. Корреляционная зависимость между уровнями НАНК в цереброспинальной жидкости в 1-е (1) и на 3-и (2) сутки от начала инсульта у больных с каротидным ишемическим инсультом.

За норму принимали средний показатель в контрольной группе ($45,9 \pm 3,9$ мг/л).

В первые часы заболевания у всех обследованных больных выявлено увеличение содержания N-ацетилнейраминной кислоты в цереброспинальной жидкости, достоверно более выраженное в группе больных с тяжелыми инсультами (на 19,2–204 % по сравнению с контролем, $p < 0,0001$, и на 46,8–49,9 % по сравнению с показателями в группе больных с инсультами средней тяжести; $p < 0,05$). Особенно высокой концентрация НАНК была при наличии обширной зоны (более 25 см^3) ишемического поражения на МРТ (превышала контроль более чем на 200 %, $p < 0,001$); при малых размерах (менее 5 см^3) ишемизированной области она была достоверно ниже (превышала контроль на 90–105 %; $p < 0,05$).

К 3-му дню отмечались разнонаправленные изменения НАНК: у больных с инсультами средней тяжести концентрация снижалась на 28,6 %, тогда как у пациентов с тяжелыми и крайне тяжелыми инсультами повышалась на 5 и 31,7 % соответственно (рис. 4.18).

Динамика содержания N-ацетилнейраминной кислоты обратно коррелировала с улучшением неврологического статуса пациентов ($r = -0,51$ по оригинальной шкале) и с функциональным восстановлением ($r = -0,45$ по индексу Бартела) к концу острого периода заболевания. У больных с регрессирующим течением инсульта и хорошим регрессом очаговых неврологических нарушений наблюдалось снижение уровня НАНК на 14–21 % независимо от исходной (в 1-е сутки) тяжести состояния. При этом варианты малого инсульта (с полным регрессом неврологического дефицита) сопро-

воздались более значимой нормализацией концентрации НАНК (до уровня, на 8—10 % превышающего контроль). В противоположность этому при прогрессивном развитии заболевания с формированием тяжелой, инвалидизирующей функциональной недостаточности концентрация НАНК увеличивалась на 28—37 % (см. рис. 4.18).

Наиболее тесная корреляционная связь выявлена между уровнями *N*-ацетилнейраминной кислоты в 1-е и 3-и сутки инсульта с размерами инфаркта мозга на 5-е сутки ($r = 0,71$ и $r = 0,87$ соответственно; рис. 4.19).

Выявленное высокое содержание *N*-ацетилнейраминной кислоты в 1-е сутки инсульта, коррелирующее с тяжестью состояния больных и обширностью ишемизированной зоны мозга, отражает интенсивность процессов разрушения нейрональных мембран, сопровождающих некротическое повреждение. Интересно, что при небольших размерах ишемизированной области мозга на 3-и сутки отмечалась тенденция к снижению уровня НАНК до относительной нормализации (в пределах 10 %) при вариантах малого инсульта. Это может свидетельствовать о завершении процессов некротического разрушения клеток. Для тяжелых форм инсульта с формированием массивного очага инфаркта мозга было характерно дальнейшее (как минимум до 3-х суток) нарастание концентрации *N*-ацетилнейраминной кислоты, что, по-видимому, соответствовало продолжению некротических процессов, т.е. позволяло предположить продолженное функционирование глутамат-кальциевого каскада.

Итак, реакции глутамат-кальциевого каскада являются наиболее быстрым ответом ткани мозга на снижение мозгового кровотока и развитие фокальной ишемии. Их результат — формирование очагового некроза в ишемизированной зоне мозга [54, 154, 155, 156, 157].

Максимум активности глутамат-кальциевого каскада приходится на первые минуты и часы ишемического инсульта (период «терапевтического окна»). В то же время повреждающие процессы, лежащие в основе заключительного этапа экспрессии (после того как свободнорадикальные реакции, ПОД, избыточное образование активных форм кислорода, эйкозаноидов, фактора активации тромбоцитов и др.), сохраняют свою значимость и в более поздние сроки, особенно при обширных размерах области ишемического поражения. Взаимодействуя с другими отдаленными последствиями ишемии (см. главу 6), они участвуют в «доформировании» очага инфаркта в течение 3—5 дней после сосудистого инцидента, а также индуцируют генерализованные дистрофические изменения нейроиммунноэндокринной системы.

Следует отметить, что деление глутамат-кальциевого каскада на этапы носит условный характер и в большей степени отражает потребность в систематизации сложного и объемного материала. Очевидна самая тесная взаимосвязь и взаимозависимость между всеми процессами каскада. Установлены множественные замкнутые круги метаболических превращений, связывающие энергетический дефицит, нарушения активного ионного транспорта, механизмы глутаматной нейротрансмиссии, состояние рецепторов и вторичных мессенджеров, ферментативные и свободнорадикальные реакции. По-видимому, через очень короткое время после «запуска» каскад начинает работать как единый метаболический «котел», где причины и следствия часто меняются местами и поддерживают друг друга. Сложность анализа обусловлена и «многоликостью» метаболических регуляторов (циклических нуклеотидов, одновалентных и двухвалентных ионов металлов, свободных радикалов и антиоксидантов и др.), эффекты которых весьма раз-

нообразны, а часто противоположны в зависимости от особенностей внутри- и внеклеточной среды.

Проведенные клинико-иммунобиохимические исследования у больных с острым каротидным ишемическим инсультом не выявили достоверных различий в изменениях метаболизма нейротрансмиттерных аминокислот, выработке аутоантител к *NMDA* рецепторам, выраженности ПОЛ, содержания супероксиддисмутазы, *cGMP* и *N*-ацетилнейраминаовой кислоты в зависимости от характера сосудистого процесса, вызвавшего нарушение мозгового кровообращения (атеротромбоз, кардиоэмболия или падение системной гемодинамики), что дополнительно доказывает универсальность механизмов церебральной ишемии. Особенности перечисленных метаболических изменений определялись прежде всего величиной и локализацией ишемического очага и коррелировали с клинической тяжестью инсульта и его исходом в конце острого периода (21-е сутки).

Литература

1. Боголепов Н.Н., Бурд Г.С. Материалы VII Всесоюзного съезда невропатологов и психиатров. — М., 1981; 2: 32—35.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Карта обследования и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990; 1—44.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Изыкенова Г.А. и др. Журн невропатол и психиатр 1996; 5: 68—72.
4. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Коваленко А.В., Савельева К.В., М.А. Журн невропатол и психиатр 1999; 2: 65—70.
5. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Раевский К.С. и др. Оптимизация содержания нейротрансмиттерных аминокислот в ликворе больных с острым ишемическим инсультом. — В кн.: Функциональные следствия как основа создания лекарственных средств. — М., 1995; 33—13.
6. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Изыкенова Г.А. и др. Журн невропатол и психиатр 1999; 2: 18—26.
7. Дамбинова С.А. Нейрорецепторы глутамата. — Л., 1989.
8. Дамбинова С.А., Каменская М.И. Молекулярные механизмы передачи импульса в мембранах нейронов. Ионные каналы, рецепторы. — В кн.: Нейрохимия. (Ашмарин И.П., Стукачев П.И. ред.) — М., 1996; 246—295.
9. Жданов Г.Г., Нечкина В.И., Лазель М.Л. Журн анестезиол и реаниматол 1989; 4: 63—68.
10. Завалишин И.А., Завалишин М.Н. Журн невропатол и психиатр 1996; 2: 111—114.
11. Дипский Л.А. Цитология 1994; 36 (3): 303—309.
12. Пинелли В.Г., Сорочина Е.Г., Реутов В.П. Докл РАН 1997; 352 (2): 259—261.
13. Раевский К.С. Бюл экспер биол и мед 1997; 123: 484—490.
14. Раевский К.С., Георгиев В.П. Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты. Москва 1986; 240.
15. Раевский К.С., Башкатова В.Г., Вишкова Г.Ю. и др. Экспер и клин фармакол 1998; 61: 13—16.
16. Савельева К.В., Микоян В.Д., Валин А.Ф. и др. Междунар конгресс патофизиологов. — М., 1996; 25.
17. Сергеев П.В., Шимаковский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы. М. Волгоград, 1999; 346—423.
18. Скворцов И.А., Карасева А.Н., Буркова А.С. и др. Актуальные проблемы педиатрической неврологии. Функция ганглиозидов в нервной системе в норме и патологии. В кн.: Обзорная информация. Медицина и здравоохранение. — М., 1987; 65.

19. Скорцова В.И., Насонов Е.Л., Журавлева Е.Ю. и др. Журн невропатол и психиатр 1999; 5: 27—32.
20. Скорцова В.И., Равеский К.С., Коваленко А.В. и др. Журн невропатол и психиатр 1999; 2: 34—39.
21. Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г., Реутов В.П. и др. Междунар конгресс патофизиологов. — М., 1996; 187.
22. Суслина З.А. Ишемические нарушения мозгового кровообращения и система простагландов (клинико-биохимическое исследование): Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1991; 331.
23. Хаспеков Л.Г., Онуфрива М.В., Дыжсин А.А. и др. Влияние ишемии на активность синтазы оксида азота в органотипической культуре ткани гиппокампа. — В кн.: Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция, Материалы 2-й Всерос Конференции. — М., 1999; 81.
24. Abe K., Kogure K., Yamamoto H. et al. J Neurochem 1987; 48: 503—509.
25. Alzenman E., Lipton S.A., Loring R.H. Neuron 1989; 2: 1257—1263.
26. Andriezen W.L. On a system of fibre-like cells surrounding the blood vessels of the brain of man and mammals, and its physiological significance. Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie 1893; 10: 532—540.
27. Ascher P., Nowak L. J Physiol 1988; 399: 247—266.
28. Back T., Kohno K., Hossmann K.-A. J Cereb Blood Flow Metab 1994; 14: 1—19.
29. Barinaga M. Science 1997; 276: 196—198.
30. Barres B.A. J Neurosci 1991; 11: 3685—3694.
31. Beckman J.S., Beckman T.W., Chen J. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 1620—1624.
32. Bennett M.R., Huxlin K.R. Gen Pharmacol 1996; 27: 1—41.
33. Berridge M.J. Triangi 1985; 3 (4): 79—90.
34. Bittar P.G., Charnay Y., Pellerin L. et al. Acta Neurol Scand Suppl 1996; 76: 940.
35. Boldyrev A.A. Trends in Neurosci 1994; 17: 47—51.
36. Bosley T.M., Woodhans P.L., Gordon R.D. et al. Neurochem 1983; 40 (1):189—201.
37. Boveris A., Chance B. Biochem J 1973; 134: 7—17.
38. Branstetter N.M., Strong A.J., Symon L. Neurosci Lett 1977; 32: 305—321.
39. Brecht D.S., Snyder S.H. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 9030—9033.
40. Brecht D.S., Glatt C.E., Hwang P.M. et al. Neuron 1991; 44 (7): 615—624.
41. Brierley L. Neuropathology 1976; 13: 1—11.
42. Buchan A.M., Li H., Sungher et al. Neurosci Lett 1991; 132: 255—258.
43. Buchan A.M., Xue D., Huang Z. et al. Neuroreport 1991; 2: 473—476.
44. Buchan A.M., Lesluk H., Chan P.K. et al. Stroke 1993; 24: 148—152.
45. Bures J., Buresova O., Ivanek. The Mechanisms and Applications of Leao's Spreading Depression of Electrical Cephalographic Activity. New York, Academic 1974.
46. Busa W.B., Nuccitelli A. J Physiol 1984; 246: 409—438.
47. Carney J.M., Carney A. Life Sci 1994; 55: 2097.
48. Carney J.M., Stanek R.E., Oliver C.N., et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 3633—3636.
49. Carmichael J., Curt A.R., Kemp J.A. et al. Neurosci Lett 1993; 153: 107—110.
50. Castillo J., Dawson A., Noya M. Lancet 1997; 349: 79—83.
51. Chan P.K. Cellular Ailioxiant Defense Mechanisms. (Chow C.K. ed.). Boca Raton FL, CRC Press 1988; 89—109.
52. Chan P.K. Cerebral Ischemia (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 105—125.
53. Choi D.W. J Neurosci 1990; 10: 2493—2501.
54. Choi D.W. Proc natl Acad Sci USA 1993; 90: 9741.
55. Choi D.W., Koh J.Y. Annu Rev Neurosci 1998; 21: 347—375.
56. Clements J.D. Trend Neurosci 1996; 19: 163—171.
57. Conley E.C. Cell Calcium 1996; 11: 233—239.
58. Cooper J.R., Bloom P.E., Roth R.H. In: The Biochemical Basis of Neuropharmacology. New York, Oxford, Univ Press 1996; 126—458.
59. Cornell-Bell A.H., Finkbeiner S.M., Cooper M.S. et al. Science 1990; 247: 470—473.

60. Czech G., Somjen G.G. *Brain Res* 1990; 527: 224–233.
61. Dalton D.W., Busto R., Ginsberg M.D. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9: 812.
62. Dambinova S.A. *Eur Patent Bull* 1993; 93/69 WO 93/00586.
63. Dani J.W., Chamjovsky A., Smith S.J. *Neuron* 1992; 8: 429–440.
64. Davalos A., Naveiro J., Noya M. *Stroke* 1996; 27: 1060–1065.
65. Davies J., Watkins J.T. *Brain Res* 1982; 235: 378–386.
66. Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H. *Ann Neurol* 1992; 32: 297–311.
67. Dawson D.A., Kusumoto K., Graham D.I. et al. *Neurosci Lett* 1992; 142: 151–154.
68. Dawson T.L., Gores G.I., Nieminen A.L. et al. *Am J Physiol* 1993; 264: 961–967.
69. Dawson T.M., Steiner J.P., Dawson V.L. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 9808–9812.
70. Diemer N.H., Jorgensen M.B., Johansen F.F. et al. *Acta Neuropathol Scand* 1992; 86: 43–49.
71. Dietrich W.D., Feng Z.C., Leistra H. et al. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1994; 14: 20–28.
72. Drejer J., Larson O.M., Schousboe A. *Exp Brain Res* 1982; 47: 259–26.
73. Drejer J., Nielsen E.G., Honore T. et al. *Neurosci Lett* 1989; 98: 333–336.
74. Duffy P., Nelson S., Lowry O. *J Neurochem* 1972; 19: 959–977.
75. Elmerl S., Schramm M. *Neurosci Lett* 1991; 130: 125–127.
76. Engelsen B.A., Fosse V.M., Myrseth E. et al. *Neurosci Lett* 1985; 62: 9–11.
77. Erecinska M., Silver I.A. Loss of neuronal calcium homeostasis in ischemia. In: *Primer on Cerebrovascular Diseases* (Welch K.M.A., Rea D., Spian L.R., Siesjo B.K., Weir B., eds.). New York, Academic 1997; 178–183.
78. Erecinska M., Nelson D., Wilson D.R. et al. *Brain Res* 1991; 304: 19–23.
79. Evans P.V. *Br Med Bull* 1993; 49: 5477.
80. Fagg G.E., Foster A.C. *Neurosci* 1983; 9: 701–719.
81. Felberggrava J., Junggren B., Norberg K. et al. *Pharmacol Ther* 1974; 90: 265–279.
82. Fisher M.A. *J Cerebrovasc Dis* 1991; 1: 112–119.
83. Fisher M.A., Garcia J.H. *Neurology* 1990; 40: 4–8.
84. Fox P.T., Raichle M.E., Mintun M.A. et al. *Science* 1988; 241: 462–464.
85. Frahm J., Kruger G., Merboldt K.D. et al. *Magnetic Resonance in Medicine* 1996; 35: 143–148.
86. Fray A.E., Forsyth R.J., Boute A. et al. *Physiology* 1996; 496: 49–57.
87. Frederickson C.J. *Int Rev Neurobiol* 1979; 31: 145–238.
88. Fujisawa F.F., Dawson D., Dawson V.L. et al. *Brain Res* 1993; 629: 73–78.
89. Garthwaite G., Garthwaite J. *Neuroscience* 1988; 26: 321–326.
90. Ginsberg M.C. Models of cerebral ischemia in the rodent. In: *Cerebral Ischemia and Resuscitation* (Schurr B.M., Rigor B.M., eds.). Boca Raton FL, CRC Press 1990; 1–15.
91. Ginsberg M.C. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1990; 2: 68–93.
92. Globus J.Y.-F., Hallenbeck R. et al. *J Neurochem* 1991; 57: 470–478.
93. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6: 44.
94. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Burd G.S. et al. *J Neurol Sci* 1997; 150: 81–82.
95. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Raevsky K.S. et al. *Eur J Neurol* 1997; 4 (1): 78.
96. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. *Cerebrovasc Dis* 2000; 10: 49–60.
97. Haddad G.C., Jiang C. *Prog Neurobiol* 1993; 40: 277–318.
98. Halliwell B.L., Packer L., Prilipko Y. *Free Radicals in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders* (Christen Y. ed.). Berlin 1992; 21–40.
99. Hammerstad J.F., Murray J.E., Cutler R.W.P. *Brain Res* 1971; 35: 357–367.
100. Hansen A.J. *Physiol Rev* 1985; 65: 101–148.
101. Hansson E. *Physiol Rev* 1985; 65: 101–148.
102. Harms L., Enchajja S., Timm G. et al. *J Neurol* 1992; 239 (64): 3–32.
103. Hegstad E., Berg-Johnsen J., Haugstad T.S. et al. *Acta neurochir (Wien)* 1996; 138 (2): 234–241.
104. Helms W.D., Graf R. *Curr Opin Neurobiol* 1994; 1: 11–19.
105. Herreras O., Somjen G.G. *Brain Res* 1993; 610: 276–282.
106. Higami Y., Shimokawa I., Okimoto T. et al. *Mut Res* 1994; 316: 59.

107. Hillered L., Chan P.H. *J Neurosci Res* 1988; 20: 451—456.
108. Hirota H., Katayama Y., Kawamata T. *et al.* *Neurol Res* 1995; 17 (2): 94—96.
109. Hollmann M., Heinemann S. *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 31—108.
110. Hossmann K. A. *Ann Neurol* 1994; 36 (4): 557—565.
111. Hossmann K. A. *Brain Pathol* 1994; 4: 23—36.
112. Huang T.T., Carlson E.J., Leadon S.A. *et al.* *FASEB J* 1992; 6: 903—910.
113. Hull C.D., van Harreveld A. *Am J Physiol* 1964; 207: 921—924.
114. Iijima T., Mies G., Hossmann K.-A. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992; 12: 727—733.
115. Irwin A., Walz W. Spreading depression waves as mediators. In: *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 35—45.
116. Isayama K., Pitts L.H., Nishimura M.C. *Stroke* 1991; 22: 1394—1398.
117. Johansen F.F., Tonder N., Berg M. *et al.* *Mol Chem Neuropathol* 1993; 18: 161—172.
118. Johnson J.W., Ascher P. *Nature* 1987; 325: 329—331.
119. Jonas P., Racca C., Sakmann B. *et al.* *Neuron* 1994; 12: 1281—1289.
120. Jorgensen M.B., Johansen F.F., Dicmer N.H. *Acta Neuropharmacol* 1987; 73:184—194.
121. Kamil H., Mikawa S., Murakami K. *et al.* *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 1153—1157.
122. Katz A.M., Messineo F.C. *Circ Res* 1981; 48: 1—16.
123. Kavanaugh W.M., Williams L.T. *Science* 1994; 266: 1862—1865.
124. Kempinski O., Staub F., Jansen M. *et al.* *Stroke* 1988; 19: 385—392.
125. Kiedrowski L., Costa E., Wroblewski J.T. *J Neurochem* 1991; 57: 333—341.
126. Kim E.Y., Koh J.Y., Kim Y.H. *et al.* *Eur J Neurosci* 1999; 11 (1): 327—334.
127. Kim Y.H., Kim E.Y., Gwag B.J. *et al.* *Neurosci* 1999; 11 (1): 177—182.
128. Kilgawa K., Matsumoto M., Kuwabara K. *et al.* *Exp Brain Res* 1991; 86: 203—211.
129. Kilgawa K., Matsumoto M., Tagaya M. *et al.* *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 11: 449—452.
130. Kraig R.P., Nicholson C. *Neuroscience* 1997; 78: 1053—1059.
131. Kristian T., Siesjö B.K. Changes in ion channels during cerebral ischemia. In: *Neuroprotective Agents and Cerebral Ischemia* (Cohen R., Cross A.R. eds.). New York, Academic 1997; 27—45.
132. Lascola C.D., Kraig R.P. Astrocyte retraction in global ischemic brain injury. In: *Primer on Cerebrovascular Diseases* (Welch K.M.A., Caplan L., Siesjö B., Weir B., Reis D.J. eds.). San Diego, CA, Academic Press 1997; 114—117.
133. Largo C., Ibarz J. M., Herreras J. *J Neurophysiol* 1997; 78: 295—307.
134. Largo C., Tombaugh G.L., Aiken J.G. *et al.* *J Neurophysiol* 1997; 77: 9—16.
135. Lauritzen M. *Acta Neurol Scand Suppl* 1987; 76: 940.
136. Lazarewicz J.W. *Ann Neurol Biol Exp (Warsz)* 1996; 56 (1): 299—311.
137. Lee J.-M., Zipp G.J., Chu D.W. *Nature* 1999; 399: 7—14.
138. Li H., Pottman M. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 933—939.
139. Lindt A., Laurson H., Jansen A.J. Is Calcium Accumulation Post-Injury an Indicator of Cell Damage? In: *Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma*. Springer Wien NY Acta Neurochir 1996; 66: 15—20.
140. Litman L., Curt B.S., Robinson M.B. *Neurochem* 1993; 61: 586—593.
141. Lofthman J., LaManna J., Cordingley G. *et al.* *Brain Res* 1975; 88: 15—36.
142. MacDermott A.B., Mayer M.L., Westbrook G.L. *et al.* *Nature* 1986; 321: 519—522.
143. Magistretti P.J. Coupling of cerebral blood flow and metabolism. In: *Primer of Cerebrovascular Diseases* (Welch K.M.A., Caplan L.R., Reis D.J., Siesjö B.K., Weir B. eds.). San Diego, Academic Press 1997; 70—75.
144. Magistretti P.J., Pellerin L. *Cereb Cortex* 1996; 6: 50—61.
145. Magistretti P.J., Pellerin L. The central role of astrocytes in brain energy metabolism. In: *Neuroscience, neurology and health*. WHO, Geneva. 1997; 53—64.
146. Mainprize T., Shuaib A., Ijaz S. *et al.* *Neurochem Res* 1995; 20 (8): 957—961.
147. Mans D., Lafleur M., Westmote E. *et al.* *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 1761.
148. Manzoni O., Prezeau L., Marin P. *et al.* *Neuron* 1992; 8: 653—662.
149. Maron J., Wolfe L.S. *Biochem Biophys Acta* 1979; 574: 25—32.

150. Matsumoto M., Yamamoto K., Hamburger H.A. et al. *Mayo Clinic Proc* 1987; 62: 460—472.
151. Matsumoto K., Yamada K., Kohmura E. et al. *Neurol Res* 1994; 16 (6): 460—464.
152. Matsuura C., Sanchez-Gomez M.V., Martinez-Millan L., Miledi R. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8830—8835.
153. McDonald J.W., Althomson S.P., Hyrc K.L. et al. *Nature Med* 1998; 4: 291—297.
154. Meldrum B.S. *Cerebrovasc Dis New York* 1989; 47—60.
155. Meldrum B.S., Garthwaite J. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 379—387.
156. Mies G., Iijima T., Hassmann K.-A. *Neuroreport* 1993; 4: 709—711.
157. Mitani A., Yanase H., Sakai K. et al. *Brain Res* 1993; 601: 103—110.
158. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109—142.
159. Morley P., Hogan M.J., Hakim A.M. *Brain Pathol* 1994; 4: 37—47.
160. Morley P., Tauskela J.-S., Hakim A.M. *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 69—105.
161. Murphy S., Simmons M.L., Agullo L. *Trends Neurosci* 1993; 16: 323—328.
162. Nagafuji T., Matsui T., Koide T. et al. *Neurosci Lett* 1992; 147: 159—162.
163. Nakashima K., Todd A. *Anesthesiology* 1996; 85 (1): 161—168.
164. Nedergaard M. *Science* 1994; 263: 1768—1771.
165. Nedergaard M., Hansen A.J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 568—574.
166. Nedergaard M., Ojedde A., Diemer N.H. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15 (6): 414—424.
167. Nicotera P., Zhitkovsky B., Orrenius S. *Cell Calcium* 1993; 16: 179—183.
168. Nordstrom C.H., Siejo B.-K. *Stroke* 1978; 9: 327—335.
169. Nowak T.S., Nowak Jr., Kiessling M. Reprogramming of Gene Expression after Ischemia. In: *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 145—217.
170. Nowak T.S., Nowak Jr., Zhou Q., Valentine W. et al. Regulation of heat shock genes by ischemia. In: *Stress Proteins* (Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 136) (Latham D.S. eds.). Springer, Heidelberg, Germany 1999.
171. Obrenovitch T.P., Zilkha E. *J Neurophysiol* 1997; 77 (5): 2107—2114.
172. Obrenovitch T.P., Zilkha E. Changes in extracellular glutamate concentration associated with propagating cortical spreading depression. In: *Experimental headache models in animal and man* (Olden J., McQuay M.A. eds.). New York, Raven 1995; 113—117.
173. Obrenovitch T.P., Zilkha E., Ungerleider L. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 160: 923—931.
174. Ohkawa H., Ohkai N., Yagi K. *Anal Biochem* 1979; 95: 351—355.
175. Oliver C.N., Starke-Reno P.E., Stadtman E.R. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5144—5147.
176. Olney J.W.E. *J Neural Transm Suppl* 1994; 43: 47—51.
177. Olney J.W.E., McGeer J.V., Olney P. Neurotoxicity of excitatory amino acids: Kainic Acid as a tool in Neurobiology (McGeer J.W. ed.). New York 1978; 95—121.
178. Oobara H., Sadoyama S., Yoo H. et al. *J Neurochem* 1992; 58: 1: 298—303.
179. Orgogozo J.M., Leirer J.F. Clinical trials in acute brain infarction: The question of assessment criteria. In: *Acute Brain Ischemia: Medical and Surgical Therapy* (Battistini N., Courbier R., Fieschi C., Fiorani P., Plum F. eds.). New York, Raven Press 1986; 282—289.
180. Orrenius S., McCabe M.S., Nicotera P. *Toxicol Lett* 1992; 64: 357—364.
181. Orrenius S., McConkey D.S., Jones D.P. et al. *Athas Sci Pharmacol* 1988; 2: 319—324.
182. Packer L.L., Packer L., Prillipko Y., Cylster Y. Free radicals in the brain. Berlin 1992; 1—20.
183. Palaiologos G.I., Hertz L., Schousboe A. *J Neurochem* 1988; 51: 317—320.
184. Paschen W. *Acta Neurobiol Exp Warsz* 1996; 56 (1): 313—322.
185. Pearson S.S., Crudek C., Mercer K., Reynolds G.P. *J Neural Transm* 1991; 86: 151—157.
186. Pellerin L., Magistretti P.J. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10625—10629.
187. Phillips J.M., Nicholson C. *Brain Res* 1979; 173: 567—571.

188. Phillips J.W., Song D., O'Regan M.H. *Neurosci Lett* 1996; 207 (3): 151–154.
189. Prichard J., Rothman D., Novotny E. et al. *Med Sci* 1991; 88: 5829–5831.
190. Puka M., Lehmann A. *J Neurosci Res* 1994; 37: 5: 641–646.
191. Puke M.J.C., Wieselhof-Hallin Z. *Anesth Analg* 1994; 77: 104–109.
192. Pulstnelli W., Brierley J., Plum F. *Ann. Neurol* 1982; 11: 491–498.
193. Ravindran J., Shuaib A., Jia S. et al. *Neurosci Lett* 1994; 176 (2): 209–211.
194. Regli L., Spent M.C., Anderson R.E. et al. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1996; 16:5:988–995.
195. Rehnkrone S., Hauge H.N., Siesjö B.K. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9: 65–70.
196. Reynolds I.J. *Eur J Pharmacol* 1990; 177: 215–216.
197. Rothman S.M., Olney J.M. *Ann Neurol* 1986; 19 (2): 105–111.
198. Rothstein J.D., Martin L., Levey A. et al. *Neuron* 1994; 13: 713–725.
199. Ruetzler C., Lohr J., Alui A. *Acta Neurochir Suppl Funct* 1990; 51: 186–188.
200. Sala L. Zur feineren Anatomie des grossen Seepferdchens. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, Band LII, Heft 1891; 2:18–45.
201. Scandinavian Stroke Study Group *Stroke* 1985; 16: 885–890.
202. Scheinberg P. *Neurology* 1991; 41: 1867–1873.
203. Schoepp D.D., Conn P.J. *Tronds Pharmacol Sci* 1993; 14: 13–20.
204. Schousboe A., Frandsen A., Wayl P. et al. *Neurotoxicology* 1994; 15: 477–481.
205. Schuman E.M. *Science* 1995; 267: 1658–1662.
206. Schurr A., West C.A., Rigor B.M. *Science* 1988; 240: 1326–1328.
207. Sensi S.L., Conzoniero L.M., Yu S.P. et al. *J Neurosci* 1997; 17 (24): 955–9564.
208. Sensi S.L., Yin H.Z., Carriedo S.G. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2414–2419.
209. Sheardown M.J., Suzdak P.D., Nordholm E. *Eur J Pharmacol* 1993; 236: 347–353.
210. Siesjö B.-K. In: *Progress in brain research* (Hossmann K., Kogure K., Siesjö B.K., Welch F. eds.). Amsterdam, Elsevier 1985; 121–131.
211. Siesjö B.-K. *Eur Neurol* 1986; 25 (1): 45–56.
212. Siesjö B.-K. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522: 67–69.
213. Siesjö B.-K., Bengtsson F. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9: 127–140.
214. Siesjö B.-K., Agardh C.C., Bengtsson F. *Brain Metab Rev* 1989; 1: 165–211.
215. Silver A., Erechinska M. *J Gerontol* 1990; 45: 837–866.
216. Silver I. A., Erechinska M. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1992; 12: 759–772.
217. Sheardown M.J., Suzdak P.D., Nordholm E. *Eur J Pharmacol* 1993; 236: 347–353.
218. Somjen G.G., Altken P.G., Czéh L. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70: 248–254.
219. Sommer B., Seeburg P.H. *Tronds Pharmacol Sci* 1992; 13: 291–296.
220. Swanson R.A., Chen J., Graham S.H. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1994; 14 (1): 1–6.
221. Takagi K., Ginsberg M.D., Hobus M.Y. et al. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1993; 13 (4): 575–585.
222. Takahashi T., Diroll F.F., Law M.J., Sokoloff L. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4616–4620.
223. Takahashi T., Frittmeyer D., Suzuki N. et al. *J Neurosci* 1996; 16: 4376–4382.
224. Takizawa S., Frittmeyer H., Ogawa S. et al. *Cerebr Blood Flow Metab* 1996; 16: 1075–1078.
225. Tamda M., O'Neill P. *J Clin Soc Perkin Trans* 1991; 11: 1681.
226. Tang C.M., Dichter M., Morad M. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6445–6449.
227. Tegtmeyer F. Differences between spreading depression and ischemia. In: *Migraine: Basic Mechanisms and Treatment* (Lehmannkuhler A., Grotemeyer K.H., Tegtmeyer G. eds.). Urban, Schwarzenberg, Munich 1993; 511–532.
228. Tombaugh G.C., Sapolsky R.M. *J Neurochem* 1993; 61: 793–803.
229. Tonder N., Johansen F.F., Fredericksen C.J. et al. *Neurosci Lett* 1990; 109: 247–252.
230. Tang G., Shepherd D., Jahr C.E. *Science* 1995; 267: 1510–1512.
231. Tuszynski G., Young A.R., Derlon J. M. et al. *Stroke* 1995; 26: 2112–2119.
232. Tsacopoulos M., Magistretti P.J. *J Neurosci* 1996; 16: 877–885.

233. Wahl F., Obrenovitch T.P., Hardy A.M. et al. *J Neurochem* 1994; 63: 1003—1011.
234. Warach S., Gao J., Siewert B. Acute human stroke studied by whole brain echo planar diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1995; 37: 231—241.
235. Weiss J.H., Hartley D.M., Koh J.Y., Choi D.W. *Neuron* 1993; 10: 43—49.
236. Welch K.M.A., Windham J., Knight R.A. et al. *Stroke* 1995; 26: 1983—1989.
237. Wieloch T. *Science* 1985; 230: 681—683.
238. Wilcox C.S. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 113.
239. Winder D.G., Smith T., Conn P.J. *J Pharmacol exp Ther* 1993; 266: 518—525.
240. Wolfe L.S. *J Neurochem* 1982; 38: 1—14.
241. Wright C.E. *Cardiovasc Res* 1992; 26 (1): 48—57.
242. Yin H.Z., Turetsky D., Choi D.W., Weiss J.H. *Neurobiol Dis* 1994; 1: 43—49.
243. Yoshida S., Inoh S., Asano T. et al. *J Neurosurg* 1980; 53: 323—331.
244. Yu K.-L., Yeo T.T., Dong K.-W. et al. *Mol Cell Endocrinol* 1994; 102: 85—92.
245. Zablocka B., Damanska-Janik K. *Acta Neurobiol Exp Warsz* 1996; 56 (1): 63—70.
246. Zarei M.M., Dani J.A. *J Gen Physiol* 1994; 103: 231—248.
247. Zhang S., Ehlers M.D., Bernhardt J.P. et al. *Neuron* 1998; 21: 443—455.

Глава 5

Метаболический ацидоз и ишемическое повреждение

Одной из первых реакций ткани мозга на снижение мозгового кровотока является развитие лактат-ацидоза.

Снижение содержания аденозинтрифосфата (АТФ) в ишемизированной зоне приводит к компенсаторной активации анаэробного гликолиза и усилению образования лактата и ионов водорода (H^+), что способствует формированию метаболического ацидоза. Незначительное увеличение концентрации ионов H^+ на ранних этапах ишемии имеет компенсаторно-приспособительное значение, так как способствует увеличению перфузии в зоне пенумбры [3]. Значительное нарастание концентраций лактата в первые часы развития ишемического инсульта вызывает снижение pH до 6,4—6,7 [8] и является неблагоприятным прогностическим признаком [1, 9, 15, 16].

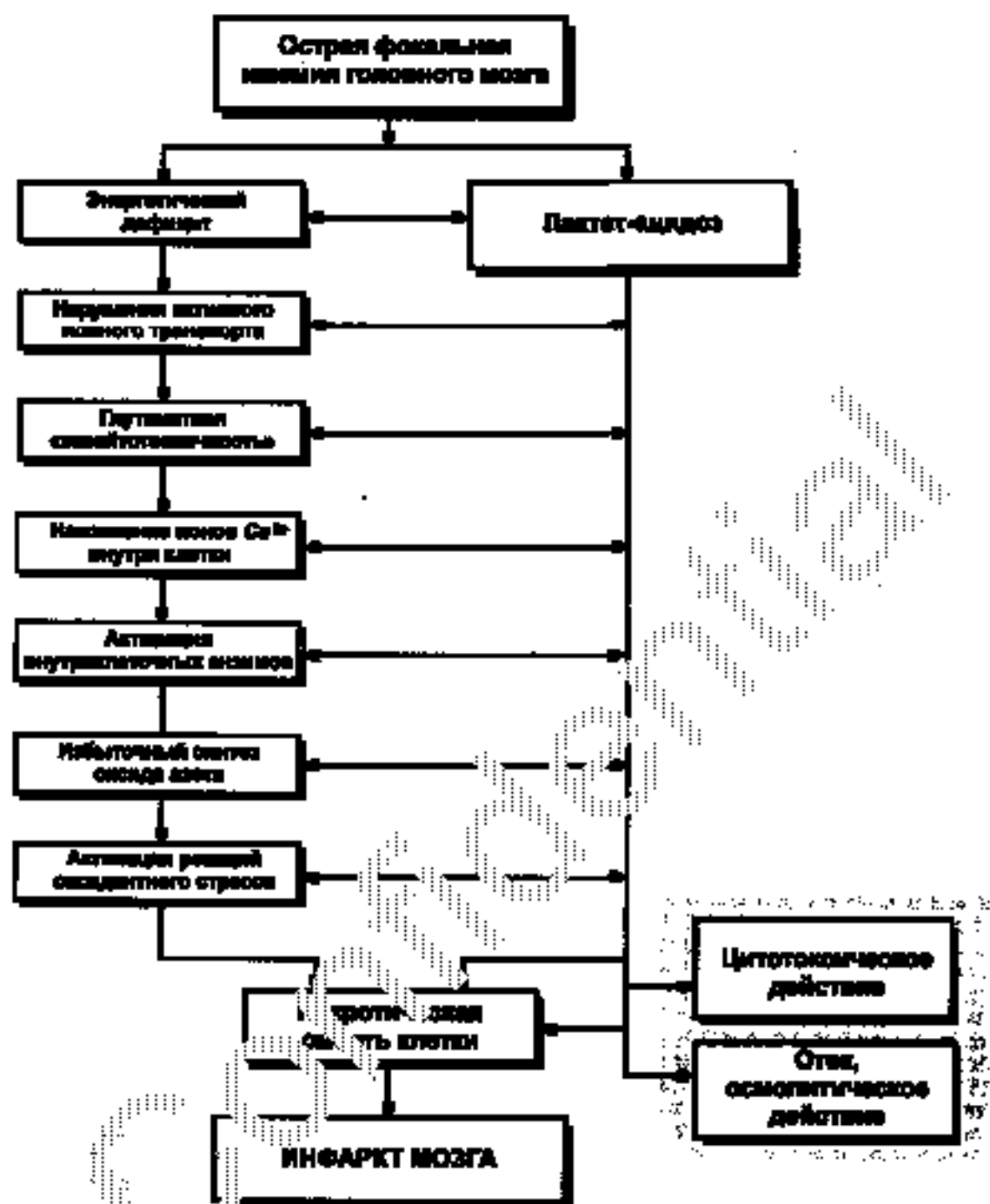
Экспериментальные работы В.К. Сазиса и соавт. [25, 29] показали, что тканевый ацидоз играет чрезвычайно важную роль в переходе от селективного нейронального некроза к инфаркту мозга. Предположение о взаимосвязи ацидоза с увеличением тяжести повреждения базируется на экспериментах, показывающих, что протическая гипергликемия усиливает повреждение, вызванное периодом ишемии, за счет снижения внутри- и внеклеточного pH [18, 29]. Введение кислоты в ткань мозга экспериментальных животных вызывает инфаркт [12].

В 90-х годах появились данные о том, что ацидоз в нейрональной культуре снижает глутаматную «эксайтотоксичность» [5, 32], однако, основанные на эксперименте *in vitro*, они не получили подтверждения *in vivo*.

В целом ацидоз угнетает метаболические реакции и ионный транспорт. Притормозивание, как диового тока теоретически может оказывать защитное действие, что и было продемонстрировано в экспериментах *in vitro*, когда внеклеточный ацидоз защищал нейроны от влияния глутамата или аноксии. Это же время доказано, что повреждающее действие ацидоза усиливается во время ишемического инсульта, так как направлено на энергетически скомпрометированную ткань [13, 14]. Внутриклеточный ацидоз ведет к нарушению секвестрации ионов Ca^{2+} в митохондриях и эндоплазматической сети вследствие конкуренции ионов H^+ и Ca^{2+} за места связывания, накоплению внутриклеточных свободных ионов Ca^{2+} и дополнительной активации «запускаемых» ими патогенетических механизмов: усугублению процессов оксидантного стресса, избыточному синтезу оксида азота, активации внутриклеточных ферментов [17, 19].

Усиление продукции свободных радикалов на фоне ацидоза связано с повышенным высвобождением в кислой среде триггера окислительных механизмов — железа — из его связей с трансферрино-подобными белками

Схема 5.1. Повреждающее действие метаболического ацидоза



[25, 29], что интенсифицирует реакции *Haber—Weiss* [20]. Следствием является быстропротекающее митохондриальное повреждение со снижением активности цитохромоксидазы и цитохрома *a—a₃* [29]. Метаболический ацидоз и гипергликемия препятствуют восстановлению митохондриальных функций в постишемическом периоде.

Снижение *pH* внутри- и внеклеточной среды оказывает и непосредственное цитотоксическое действие [6, 22, 25], вызывая «разрушение» клеточных мембран, изменяя их физико-химические свойства, способствуя повышенной проницаемости нейронов и эндотелия сосудов [1]. Набухание эндотелиальных клеток [11] усугубляет микроциркуляторные нарушения и

вследствие этого постишемическую гипоперфузию, или феномен «невосстановленного кровотока» (*no-reflow*) [2].

Эксперименты показывают, что преишемическая гипергликемия и ацидоз ведут к конденсации ядрышкового хроматина в нейронах, нарушениям цепи трансдукционных сигналов при усилении фрагментации ДНК, изменениям экспрессии мРНК [4].

В культуре ткани мозга астроциты более чувствительны к ацидозу, чем нейроны [5, 7]. Существует предположение, что одним из наиболее важных механизмов повреждающего действия ацидоза является морфофункциональное разобщение нейронально-глиальных связей [26]. Так, ацидоз-индуцированное повреждение астроцитов способствует некротической смерти нейронов, нарушая процессы транспорта глутамата из синаптической щели и влияя на уровень «эксайтотоксичности» [31, 33].

Накопление ионов H^+ является важным фактором развития клеточного отека [10, 22, 23, 28]. Начальное увеличение тканевой жидкости оказывает цитотоксическое действие, способствуя нарушениям энергетического обмена [21].

Таким образом, ацидоз оказывает целый спектр различных влияний на все уровни метаболизма нервной ткани (схема 5.1).

Рассматривая глутамат-кальциевый каскад как основополагающий путь формирования некротического очага в мозге, можно статистировать участие лактат-ацидоза в большинстве наиболее важных его процессов. Снижение pH внутри- и внеклеточной среды гиперичает и усугубляет энергетические нарушения, изменения ионного транспорта, глутаматную «эксайтотоксичность», изменения регуляторных свойств вторичных мессенджеров, катализирует активность ферментов, свободнорадикальных реакций и т.д.

Резюмируя, следует сделать вывод, что комплексное повреждающее действие ацидоза является важным компонентом разворачивающихся процессов острой церебральной ишемии и развития инфаркта мозга.

Литература

1. Бурд Г.С. Дыхательная недостаточность у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1983.
2. Ames A.I., Wright R.L., Swada M. *Am J Pathol* 1968; 52: 437—453.
3. Baron J.C., Tziavarakis S.J., Herholz K. et al. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9:723—742.
4. Combs D.J., Demery R.J., Donaldson D., Kindy M.S. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1992; 12: 165—172.
5. Giffard A.C., M'Nayer H., Christine C. W., Choi D.W. *Brain Res* 1990; 506, 339—342.
6. Glasberg M.L. *New Strategies to Prevent Neural Damage from Ischemic Stroke*. Boston 1994; 34.
7. Goldman S.A., Pulsinelli W.A., Clarke W.Y. et al. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9: 471—477.
8. Hakim A.M., Shoubridge E.A. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1989; 1: 115—132.
9. Harms L., Erchtaja S., Timm G. et al. *J Neurol* 1992; 239 (64): 3—32.
10. Kempinski O., Staub F., Rosen F.V. et al. *Neurochem Pathol* 1988; 9: 109—125.
11. Kazuka M., Smith M. L., Siejo B. K. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1989; 9: 478—490.
12. Kraig R.P., Pettito C.K., Plum F., Pulsinelli W.A. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1987; 7: 379—386.
13. Kristian T., Odo G., Siejo B. K. *J Cerebr Blood Flow Metab* 1995; 15: 78—87.

14. *Lascola C.D., Krug R.P.* Astrocyte reaction in global ischemic brain injury. In: *Primer on Cerebrovascular Diseases* (Welsh M., Caplan L., Siesjö B., Weir B., Reis D. J. eds.). San Diego, CA, Academic 1997; 114—117.
15. *Matsumoto M., Yamamoto K., Hamburger H.A. et al.* Mayo Clinic Proc 1987; 62: 460—472.
16. *Matsumoto K., Yamada K., Kohmura E. et al.* Neurol Res 1994; 16: 6: 460—464.
17. *Nakashima K., Todd A.* Anesthesiology 1996; 85 (1): 161—168.
18. *Nedergaard M.* Acta Neurologica Scandinavica 1988; 77: 1—24.
19. *Oobashi H., Sadashima S., Yao H. et al.* J Neurochem 1992; 58 (1): 298—303.
20. *Rehncrona S., Hauge H.N., Siesjö B.K.* J Cereb Blood Flow Metab 1989; 9: 65—70.
21. *Ruetzler C., Lohr J., Alvi A.* Acta Neurochir Suppl Fauts 1990; 51: 186—188.
22. *Scheinberg P.* Neurology 1991; 41: 1867—1873.
23. *Siesjö B. J., Siesjö P.* Eur J Anaesthesiol 1996; 13: 247—268.
24. *Siesjö B. K.* In: *Progress in brain research* (Hossmann K.A., Kogure K., Siesjö B.K., Welsh F. eds.). Amsterdam, Elsevier 1985; 121—154.
25. *Siesjö B. K., Bengtsson F.* J Cereb Blood Flow Metab 1989; 9: 127—141.
26. *Siesjö B. K., Lindvall O.* Brain Res 1996; 38: 139—144.
27. *Siesjö B. K., Agardh C.-D., Bengtsson F.* Cerebrovasc Brain Metab P 1990; 1: 165—211.
28. *Siesjö B. K., Katsura K. et al.* In: *Progress in brain research* (Kogure K., Hossmann K. A., Siesjö B. K. eds.). Amsterdam, Elsevier 1993; 23—48.
29. *Siesjö B. K., Katsura K., Kristian T. et al.* Molecular Mechanisms of Anoxia-Mediated Damage. In: *acta Neurochir* 1996; 66: 8—14.
30. *Silver I.A., Erecinska M.* J Gen Physiol 1990; 95: 837—857.
31. *Stanimirovic D.B., Ball R., Durkin J.P.* Glia 1997; 19: 123—134.
32. *Tombaugh G.C., Sapolsky R.M.* J Neurochem 1993; 61: 793—803.
33. *Vibulcsev S., Hefti F., Ginsberg M.D. et al.* Brain 1997; 120: 303—311.

Глава 6

Отдаленные последствия острой фокальной ишемии мозга; «доформирование» очага инфаркта

Формирование большей части инфаркта при фокальной ишемии заканчивается через 3—6 ч с момента появления первых клинических симптомов инсульта [21, 29, 32, 57, 60]. В то же время процессы, начатые в первые часы заболевания и лежащие в основе деятельности глутамат-кальциевого каскада (изменения ионного транспорта, метаболизма глутамата и кальция, свободнорадикальные реакции, перекисное окисление липидов, избыточное образование оксида азота, эйкозаноидов, фактора активации тромбоцитов и др.), сохраняют свою значимость и в более поздние сроки, особенно при обширных разрывах области ишемического поражения. Они индуцируют и поддерживают другие отдаленные последствия ишемии: реакцию генома с включением молекулярных программ (см. главу 7), изменения астро- и микроглиального клеточных пулов и связанные с ними иммунные сдвиги, локальное воспаление в очаге ишемии (см. раздел 8.1; главу 9), нарушение микроциркуляции и гематоэнцефалического барьера (см. раздел 1.2). С особым значением в механизмах отсроченного повреждения церебральной ткани имеет апоптоз — вид программированной клеточной смерти (см. главу 10). Все эти процессы обуславливают «доформирование» инфаркта мозга за счет распространения повреждения зонь «шумра» от центра ишемии к периферии, а также вызывают долготемперные генерализованные изменения нейроиммунноэндокринной системы (рис. 6.1).

Длительность периода «доформирования» инфарктных изменений окончательно не установлена и, по-видимому, индивидуальна. Современные иммунологические [43, 53, 54] и нейровизуализирующие [15, 18, 24, 68, 71, 73] методы свидетельствуют о возможности выживания ткани пенумбры в течение как минимум 48—72 ч после сосудистого инцидента, а возможно и дольше. Такие наблюдения имеют чрезвычайно важное практическое значение, так как позволяют предположить отсутствие жестко лимитированных временных границ «терапевтического окна» и оправдывают поиски новых эффективных методов защиты.

Литература — см. главу 1.

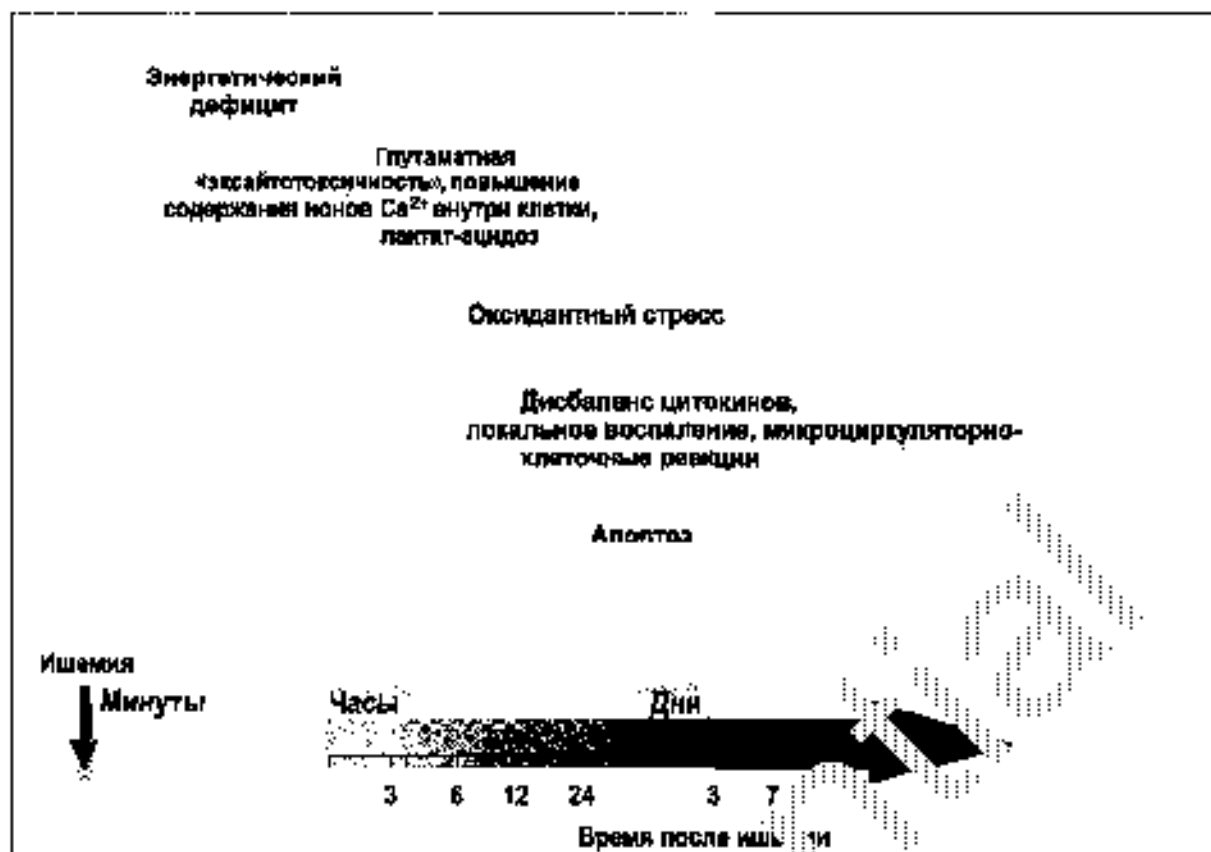


Рис. 6.1. Временная динамика процессов формирования инфаркта мозга на фоне острой фокальной ишемии.

Глава 7

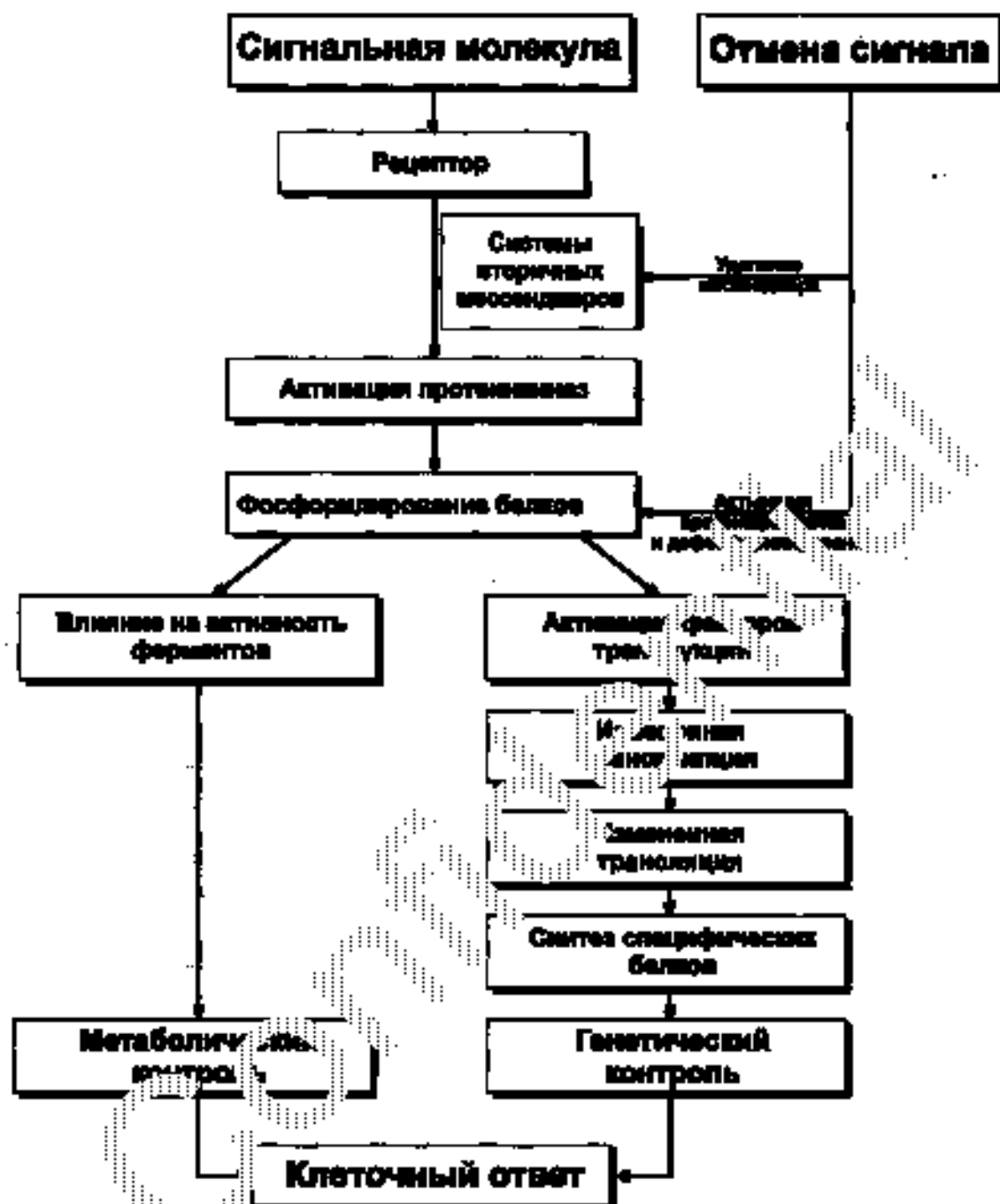
Реакция генома на острую церебральную ишемию и последующие молекулярные события

Анализ патофизиохимических механизмов формирования инфаркта мозга на фоне острой фокальной церебральной ишемии свидетельствует о наличии тесной взаимосвязи между всеми метаболическими каскадами, об их сопряжении во времени и взаиморегуляции с помощью единой сигнальной системы, общих систем клеточных мессенджеров.

Система сигнальной трансдукции первой реагирует на любое повреждающее воздействие, в том числе ишемию, принимая на себя функции регуляции всех молекулярных и клеточных событий, происходящих в ткани мозга. Центральным звеном в сигнальной цепи является рецептор-опосредованная генерация внутриклеточных вторичных мессенджеров, которые модулируют активность таких протеинов, как киназы, рецепторы и ионные каналы. Все эти регуляторные proteins, включая рецепторы, участвуют в модуляции процессов нейронального повреждения и репарации. Основным механизмом передачи экстра- и интраклеточных сигналов является фосфорилирование/дефосфорилирование протеинов с помощью ферментов протеинкиназ и фосфатаз, которые регулируются непосредственно рецепторной активацией или опосредованно — активированными вторичными мессенджерами (схема 7.1). Неразраспределение протеинкиназ на клеточных мембранах, вызванное ишемией, изменяет фосфорилирование рецепторов и протеинов ионных каналов. Состояние фосфорилированности регуляторных proteins влияет на механизмы выживания и смерти клеток. Так, активация протеинкиназ в первые минуты и часы ишемии стимулирует высвобождение нейротрансмиттеров, деятельность ионных каналов и рецепторов, что сопровождается нарушением активного ионного транспорта, истощением аденозинтрифосфата (АТФ) и ускорением нейронального некроза, особенно в зоне пenumбры. Дальнейшее фазное снижение активности протеинкиназ ведет к угнетению внутриклеточных сигнальных процессов, в следовательно, к уменьшению выраженности трофических и других жизнеобеспечивающих влияний на клетку, способствуя отсроченной нейрональной смерти.

Информация об изменении состояния мембранных структур и рецепторов, определяемая картиной перераспределения протеинкиназ на мембранах, передается с помощью систем вторичных мессенджеров (аденилатциклаз, протеинкиназ, фосфатаз) к ядру клетки, что является сигналом к включению единого триггерного молекулярного механизма, реализующего универсальный алгоритм ответа ткани мозга на повреждающее воздействие (рис. 7.1) [52, 74]. Таким образом, острая церебральная ишемия активирует

Схема 7.1. Функционирование системы внутриклеточной сигнальной трансдукции (формирование ответа клетки на внешний сигнал)



комплекс генетических программ, которые приводят к последовательной экспрессии большого числа генов (рис. 7.2). Некоторые из них принимают участие во внезапной ранней реакции на ишемию, другие — вовлекаются в клеточные процессы, определяющие развитие ишемического повреждения, или координируют репаративные процессы [28, 42]. Временная динамика экспрессии генов зависит от вида ишемии и при фокальном ее варианте различна в центральной («ядерной») области ишемии и зоне пенумбры.

Биохимические процессы генной экспрессии — транскрипции на первом этапе [биосинтез молекул информационной, или матричной, РНК

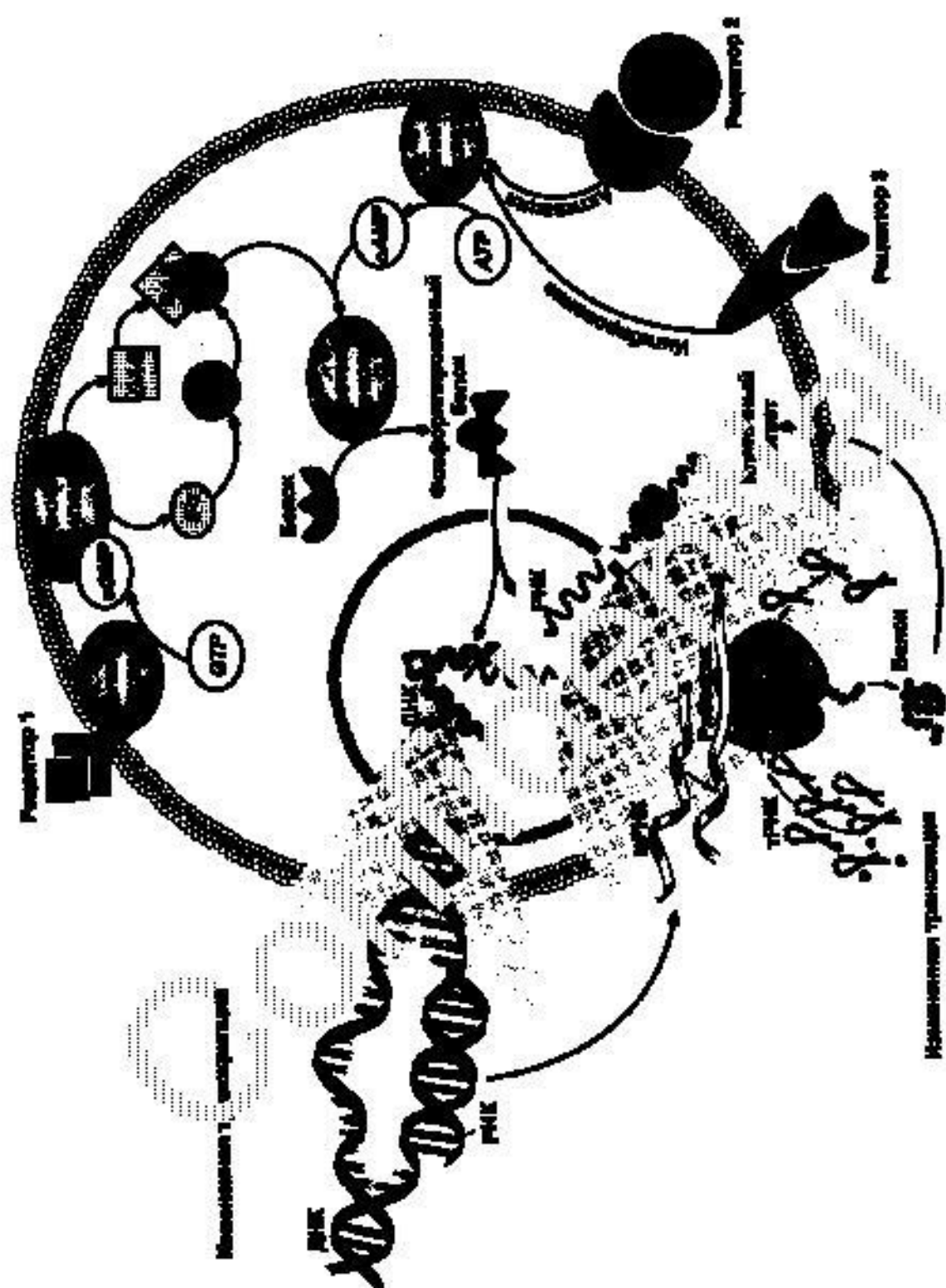


Рис. 7.1. Регуляция жизнедеятельности клетки внешними сигналами через систему внутриклеточной сигнальной трансдукции.

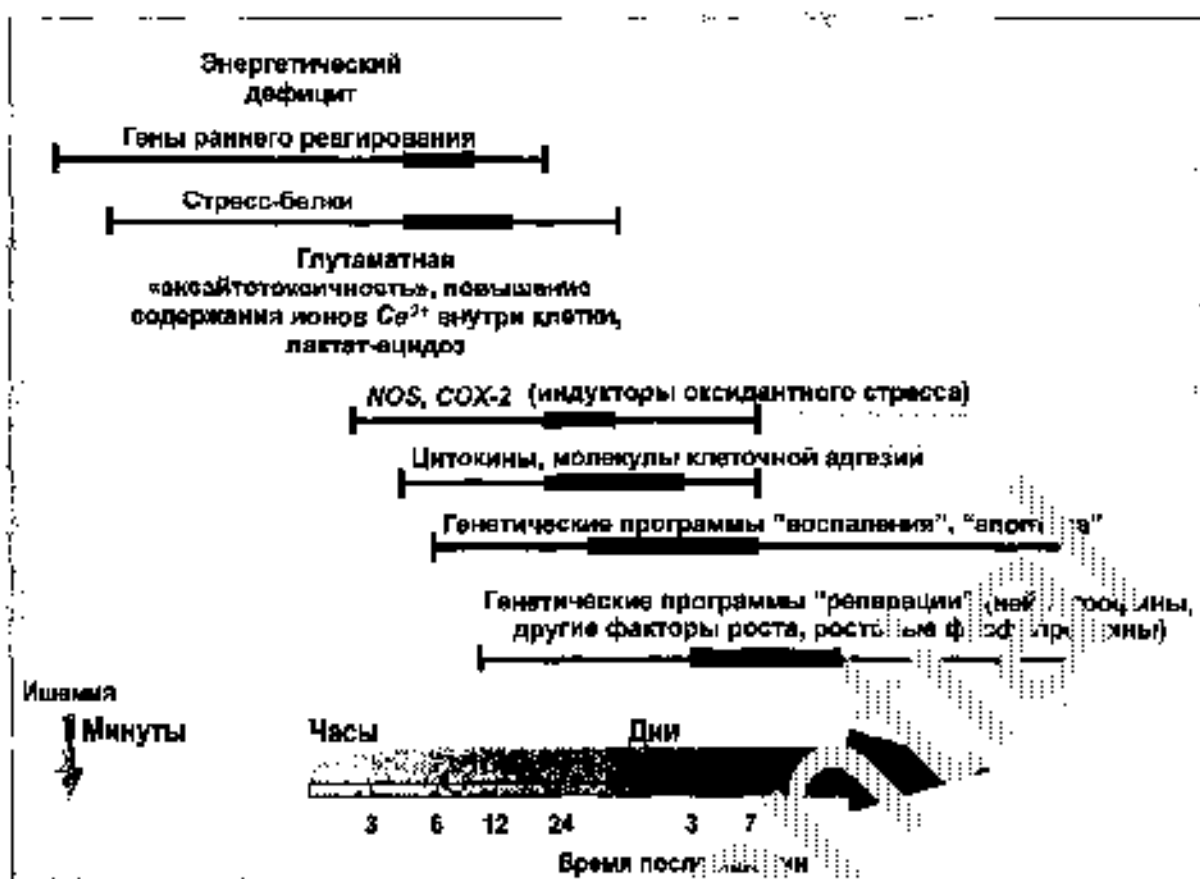


Рис. 7.2. Временная последовательность основных реакций ткани мозга в ответ на острую церебральную ишемию.

(мРНК) на матрице ДНК) и трансляции на втором этапе (процесс синтеза белка на основе кодовой последовательности нуклеотидов в мРНК) — определяются доступностью ATP и GTP и в целом сохранностью энергетического метаболизма [51]. Поэтому неудивительно, что первой реакцией ткани мозга на снижение мозгового кровотока является снижение синтеза мРНК и белков [85]. Для поддержания базового синтеза требуется мозговой кровоток не менее 50–60 мл/100 г в 1 мин [31, 51, 84]. Это существенно выше уровня, необходимого для поддержания продукции ATP [51, 84] (см. главу 1).

В экспериментальной работе Т. Камия с соавт. [34] установлено, что критическим уровнем кровотока для синтеза мРНК гена раннего реагирования *c-fos* при фокальной ишемии является 25–30 мл/100 г в 1 мин, тогда как для накопления Fos-белка — 35–40 мл/100 г в 1 мин, что подтверждает зависимость выраженности транскрипционной активности от энергетического метаболизма. В области центрального инфаркта полностью заторможен синтез мРНК, и белков, в то время как в окружающей перинфарктной ткани синтез мРНК сохранен при угнетении белковой продукции.

Восстановление мозгового кровотока после проходящей фокальной ишемии сопровождается быстрой нормализацией синтеза мРНК [49], что сопряжено с восстановлением большинства метаболических процессов. В то же время дефицит белкового синтеза может сохраняться в течение многих часов рециркуляции [2]. Степень восстановления синтеза белков отражает индивидуальную уязвимость нейронов популяций и имеет про-

гностическое значение: быстрая и полная нормализация трансляционной активности предопределяет выживание нейронов, а медленная и частичная, наблюдаемая в нейронах СА₁ области гиппокампа, — смерть [6, 33, 82].

Несмотря на общее мнение, согласно которому недостаточность трансляционных механизмов и, следовательно, белкового синтеза негативно влияет на исход ишемии, появились данные о том, что в определенных условиях *in vitro* белковый дефицит останавливает прогрессирование апоптоза [47]. В исследованиях, проведенных *in vivo*, также было доказано нейропротективное действие некоторых ингибиторов белкового синтеза [19, 62, 69]. Однако их благоприятные эффекты, возможно, были связаны и с усилением транскрипционной активности потенциально протективных генов [14, 16].

Первой, относительно неспецифичной реакцией генома на любое повреждающее воздействие (в том числе ишемию) является индукция генов раннего (немедленного) реагирования (*c-fos*, *c-jun*, *krox-20*, *zif/268* и др.), или «стрессовых мессенджеров» [1, 10, 27, 52]. Их включение происходит уже в первые минуты ишемии в ответ на изменения активности ионного транспорта и потенциала мембран в перинфарктной области, стимуляцию нейрональных рецепторов продуктами глутаматной «эксайтотоксичности» и оксидантного стресса [1, 38]. От рецепторов и мембран сигнал о повреждающем клетку воздействии передается к ядру нейрона, где и начинается экспрессия генов [52, 74]. Процесс экспрессии динамично регулируется лиганд-активированными транскрипционными факторами (в том числе ядерными рецепторами к стероидным гормонам) [75]. Активность синтезируемых белков может изменяться под влиянием посттрансляционной модификации по механизмам фосфорилирования и дефосфорилирования [78].

Экспрессия большинства генов раннего реагирования приводит к синтезу ДНК-связанных протеинов, включая транскрипционных факторов, которые в свою очередь вызывают экспрессию широкого спектра генов [3] через активацию *AP₁* и *CRE* промоторных элементов [4]. Другие гены раннего реагирования кодируют сигнальные молекулы, вовлеченные в биохимические каскады: протеинфосфатазы, G-белки, тканевый активатор плазминогена, циклооксигеназу и синтезируемые цитокины [52], т.е. можно сказать, что гены раннего реагирования участвуют в передаче информации от клетки к клетке.

Среди транскрипционных факторов выделяют 2 группы: — первая белки «лейциновой молнии», или «основной застежки» (*leucine zipper*, или *basic zipper* — *bzip*), к которым относят белки *fos*, *jun* и *myc* генных семейств, вторая — «цинк-пальцы» белки (*zinc finger*), включающая *KROX-24* (или *Zif/268*), *KROX-20*, *EGR-3*, *NGFI-B*, *NGFI-C*, *NURR*.

Белки *fos*, *jun* и *krox* генных семейств играют решающую роль в контроле за клеточным циклом, развитием, ростом и дифференциацией клеток, а также определяют судьбу дифференцированных нейронов центральной нервной системы с определенным молекулярным фенотипом [58]. Транскрипционные факторы могут являться, по результатам недавних исследований [24], медиаторами как нейрональной смерти, так и выживания клеток.

На экспериментальных моделях ишемического инсульта с постоянной окклюзией средней мозговой артерии [79] было показано, что экспрессия мРНК генов *c-fos* и *zif/268* быстро нарастает в течение первого часа после окклюзии мозговой артерии, достигает пика через 38 ч и возвращается к норме соответственно через 24 и 12 ч. В то же время в течение не менее 4 дней после начала ишемии сохраняется повышенный синтез транскрип-

ционных факторов в периферических отделах ишемизированной зоны [76, 77].

Экспрессию генов раннего реагирования с индукцией образования мРНК и протеинов определяют на обширной территории всего полушария мозга, гомолатерального окклюзии. При этом ряд исследователей наблюдали ее и в области центрального инфаркта [4, 81]. Так, М. Jasiewicz с соавт. [32] выявили слабо определяемые уровни *c-fos* мРНК в «ядерной» зоне ишемии, которые соответствовали степени снижения мозгового кровотока. Вместе с тем было продемонстрировано отсутствие белкового синтеза в инфарктной области [17, 25, 76, 77]. Более того, сохранение способности клеток ишемизированной зоны к синтезу *de novo* транскрипционных факторов, кодируемых генами раннего реагирования, признано наиболее точным и чувствительным критерием их жизнеспособности.

Получены интересные данные о регистрации повышенной экспрессии генов раннего реагирования в областях, удаленных от зоны ишемии. По мнению большинства исследователей, этот феномен связан с «распространяющимся процессом перинифарктной деполяризации и «распространяющейся депрессией» [21, 56] (см. раздел 4.2). Об этом свидетельствует идентичная реакция генов раннего реагирования на экспрессию инициальную «распространяющуюся депрессию» [23, 24, 26] и на активацию глутаматных *NMDA* рецепторов [43, 61].

Стресс-белки, или белки теплового шока (*stress proteins; heat-shock proteins — HSP*), кодируются семейством эволюционно устойчивых генов, которые экспрессируются в ответ на разнообразны стрессовые воздействия и участвуют в механизмах адаптации [48]. Ранее были открыты при термическом шоке у дрозофиллы [65], стресс-белки участвуют в большинстве физиологических процессов всех живых организмов [54] и являются компонентом единого сигнального механизма [5].

Активация транскрипционных факторов стресс-белков (*HSP*) происходит путем их фосфорилирования под влиянием увеличения внутриклеточной концентрации кальция [11], свободнорадикальных реакций [11, 13, 39, 75], перекисного окисления липидов [12] и других процессов оксидантного стресса [15], активации протеазных ингибиторов [86] и тирозинкиназ [63]. Но основным триггером, запускающим синтез стресс-белков, является дефицит *ATP*, сопровождающий недостаточное поступление в ткань мозга кислорода и глюкозы [1].

Существуют несколько классов транскрипционных факторов стресс-белков, среди которых *HSF1* является медиатором ответа на стресс, а *HSF2* — регулятором *hsp*-генов [55, 58, 67, 68]. В условиях церебральной ишемии *HSF1* и *HSF2* синергично активируют генную транскрипцию [50, 70]. Они образуют активированные тримеры, которые связываются с регуляторными последовательностями (*HSE*) в промоторных зонах стресс-генов, что приводит к синтезу мРНК [64, 66, 71, 83]. Накопление стресс-белков ведет к «включению» ауторегуляторной петли, прерывающей их дальнейшую экспрессию [7].

В экспериментальных моделях с фокальной ишемией мозга установлено, что экспрессия гена основного стресс-белка *HSP72* регистрируется в ограниченной области мозга с уровнем снижения мозгового кровотока ниже 50 % от нормы и только в клетках, остающихся жизнеспособными [58, 60]. Соответственно в «ядерной» зоне ишемии экспрессия гена *hsp72* отмечается преимущественно в клетках эндотелия сосудов, более резистентных к ишемии; в маргинальной области инфаркта — и в глиальных клетках, в зоне пенумбры — и в нейронах [18, 41].

Экспрессия генов других стресс-белков различна в разных клеточных пулах. Так, экспрессия *hsp27* преимущественно зарегистрирована в астроцитах [3537], гемоксигеназы-1 (*HO-1*, *hsp32*) — в микроглиальных клетках.

Последние исследования позволили предположить нейропротективную роль стресс-белков. Показано, что *HSP72*-позитивные клетки в зоне пенумбры легче всего «переживают» острую ишемию [73].

Третья волна генной экспрессии включает гены, кодирующие молекулы универсальных регуляторов клеточных процессов, принимающих участие во всех основных механизмах отсроченной гибели клеток (см. рис. 7.2). На этом этапе происходит запуск синтеза провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, которые индуцируют процессы локального воспаления в очаге ишемии, нарушения микроциркуляции и гематоэнцефалического барьера [40, 44, 45] (см. главу 8); ферментов — синтазы оксида азота (*iNOS*) и циклооксигеназы-2 (*COX-2*), участвующих в механизмах оксидантного стресса [20, 29, 30, 57]. Экспрессия провоспалительных и прооксидантных факторов преимущественно происходит в нейтрофилах, эндотелиальных и микроглиальных клетках; достигает максимума через 12 ч после окклюзии средней мозговой артерии [28], обуславливая соответствующую временную динамику отдаленных последствий ишемии (см. главы 8–10).

В настоящее время доказано [46, 58, 80], что экспрессия генов раннего реагирования и синтез стресс-белков «включают» механизмы, связанные с запрограммированной клеточной смертью и механизмы апоптоза (см. главу 10). Выявлена также тесная связь запуска процессов апоптоза с синтезом основного триггера воспалительных реакций — интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β), что отражает существование единой молекулярной индукции отдаленных последствий ишемии.

Избыточный синтез провоспалительных цитокинов, прежде всего ИЛ-1 β , оказывает непосредственное воздействие на эндокринную систему, обуславливая подключение нейрогормональных реакций к общему нейроиммунноэндокринному стресс-реализующему процессу (см. главу 11).

Литература

1. Аямарин И.П., Стукачев Г.Я. Архимия. — М.: Изд-во Инст Биомед химии РАМН, 1996.
2. Abe K., Araki T., Yonekura J. *J Neurochem* 1988; 51: 1470–1476.
3. Akins P.T., Liu J.K., et al. *Stroke* 1996; 27: 1682–1687.
4. An G., Li T.N., Ju J.S. et al. *Ann Neurol* 1993; 33: 457–464.
5. Ananthan J., Galante J.L., Voellmy R. *Science* 1986; 232: 522–524.
6. Araki T., Kato H., Inoue T., Kogure K. *Acta Neuropathol* 1990; 79: 501–505.
7. Baler R., Zou J., Voellmy R. *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 33–39.
8. Beato M., Herlihy P., Schutz G. *Cell* 1995; 83: 851–857.
9. Benjamin D., Hone S., Greenberg M. L. et al. *J Clin Invest* 1992; 89: 1685–1689.
10. Bravo R. *Cell Growth Diff* 1990; 1: 305–309.
11. Bruce J.L., Price B.D., Coleman N. et al. *Cancer Res* 1993; 53: 12–15.
12. Caçone F., Salina M., Benelli-Zazzera A. *Biochem J* 1989; 262: 977–979.
13. Courgeon A.-M., Rollet E., Becker J. *Eur J Biochem* 1988; 171: 163–170.
14. Edwards D.R., Mahadevan L.C. *EMBO J* 1992; 11: 2415–2424.
15. Freeman M.L., Barrelli M.J., Syed K. *J Cell Physiol* 1995; 164: 356–366.
16. Furukawa K., Estus S., Fu W. et al. *J Cell Biol* 1997; 136: 1–13.
17. Gass P., Spranger M., Herdegen T. et al. *Acta Neuropathol* 1992; 84: 545–553.
18. Gonzalez M. F., Shiraishi K., Hisanaga K. et al. *Mol Brain Res* 1989; 6: 93–100.
19. Goto K., Ishige A., Sekiguchi K. et al. *Brain Res* 1990; 534: 299–302.

20. Grandati M., Verrecchia C., Revaud M. L. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 94.
21. Hansen A.J. *Physiol Rev* 1985; 65: 101—148.
22. Herdegen T., Brecht S., Mayer B. et al. *J Neurosci* 1993; 13: 4130—4146.
23. Herdegen T., Sandkühner J., Gass P. et al. *J Comp Neurol* 1993; 333: 271—288.
24. Herdegen T., Skene P., Bahr M. *Trends Neurosci* 1997; 20: 227—231.
25. Herrera D.G., Robertson H.A. *Brain Res* 1989; 503: 205—213.
26. Herrera D.G., Robertson H.A. *Brain Res* 1990; 510: 166—170.
27. Herschman H.R. *Annu Rev Biochem* 1991; 68: 281—319.
28. Iadecola C. Mechanisms of cerebral ischemic damage. In: *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 3—33.
29. Iadecola C., Xu X., Zhang F. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 52—59.
30. Iadecola C., Zhang P., Casey R. et al. *Stroke* 1996; 27: 1373—1380.
31. Jacewicz M., Klesling M., Pulsinelli W.A. *J Cereb Blood Flow Metab* 1986; 6: 263—272.
32. Jacewicz M., Takeda Y., Nowak T.S., Jr., Pulsinelli W.A. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 450.
33. Johansen F.P., Diemer N. H. *Acta Neuropathol (Berl.)* 1990; 81: 14—17.
34. Kamiya T., Jacewicz M., Pulsinelli W.A., Nowak T.S., Jr. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 1.
35. Kato H., Kogure K., Liu Y. et al. *Brain Res* 1994; 652: 71—75.
36. Kato H., Kogure K., Liu X.-H. et al. *Brain Res* 1995; 679: 1—7.
37. Kato H., Kogure K., Araki T. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 61—70.
38. Klesling M., Gass P. *Brain Pathol* 1994; 4: 77—83.
39. Kil H.Y., Zhang J., Piantadosi C.A. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 100—106.
40. Kim J.S. *J Neural Sci* 1996; 137: 69—78.
41. Kinouchi H., Sharp P., Kolstinaho J. et al. *Brain Res* 1993; 699: 334—338.
42. Kolstinaho J., Hokfelt T. *NeuroReport* 1997; 8(2): 1—4.
43. Lauritzen M., Hansen A. J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992; 12: 223—229.
44. Liu T., McDonnell P.C., Young P.R. et al. *Stroke* 1993; 24: 1746—1751.
45. Liu T., Dark R. K., McDonnell P.C. et al. *Stroke* 1994; 25: 1481—1488.
46. MacManus J.P., Linnik M.D. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 815—832.
47. Martin L.J., et al. *Brain Res Bull* 1998; 46: 297—309.
48. Massa S.M., Swanson R.A., Sharp P.R. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1996; 8: 95—158.
49. Matsumoto K., Yamada K., Hatanaka T. *Brain Res* 1990; 510: 45—48.
50. Mestril R., Ch, S.-H., Sayen R., Dillman W.H. *Biochem J* 1994; 298: 561—569.
51. Mies G., Ishimaru S., Xie Y. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 11: 753—761.
52. Morgan J.I., Curran T. *Annu Rev Neurol* 1991; 14: 421—451.
53. Morgan J.I., Curran T. *The Neuroscientist* 1995; 1: 68—75.
54. Morimoto R., Tissieres A., Georgopoulos C. *The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones*. New York, Plain-view, Cold Spring Harbor Laboratory Press 1994.
55. Nakai A., Morimoto R. M. *J Cell Biol* 1993; 13: 1983—1997.
56. Nedergaard M., Hansen A.J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 568—574.
57. Nogaw, S., Zhang F., Ross M.E., Iadecola C. *J Neurosci* 1997; 17: 2746—2755.
58. Nowak T.S., Jacewicz M. *Brain Pathol* 1994; 4: 67—76.
59. Nowak T.S., Pulsinelli W.A. Reprogramming of Gene Expression after Ischemia. In: *Cerebral Ischemia* (Wolfgang Walz ed.). New Jersey, Totowa, Humana Press 1999; 145—177.
60. Nowak T.S., Zhou Q. et al. Regulation of heat shock genes by ischemia. In: *Stress Proteins (Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 136)* Heidelberg Germany, Springer 1999.
61. Obrenovitch T.P., Zilkha E., Urenjak J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 923—931.
62. Papas S., Crepel V., Hasboun D. et al. *Eur J Neurosci* 1992; 4: 758—765.
63. Price B.D., Calderwood S.K. *Cell Biol* 1991; 11: 3365—3368.
64. Rabindran S.K., Haroun R.I., Clos J. *Science* 1993; 259: 230—234.
65. Rössen F. *Experientia* 1962; 18: 571—573.
66. Sarge K.D., Murphy S., Morimoto R.I. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 1392—1407.

67. Scharf K.-D., Rose S., Zott W. et al. EMBO J 1990; 9: 4495—4501.
68. Schuetz T.J., Gallo G.J., Sheldon L. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 6911—6915.
69. Shigeno T., Yamasaki Y., Kato G. et al. Neurosci Lett 1990; 120: 117—119.
70. Sistonen L., Sarge K.D., Morimoto R.I. Mol Cell Biol 1994; 14: 2087—2099.
71. Sorger P.K., Pelham H.R.B. EMBO J 1987; 6: 3035—3041.
72. Stabberod P., Tomasevic G., Kamme F., Wieloch T. Abstr Soc Neurosci 1994; 20: 616.
73. States B.A., Hankalteml J., Weinstein P.R., Sharp F.R. J Cereb Blood Flow Metab 1996; 16: 1165—1175.
74. Steng M., Greenberg M.E. Neuron 1990; 4 (477): 44—85.
75. Suga S., Nowak T.S., Jr. Neurosci Lett 1998; 243: 57—60.
76. Uemura Y., Kowall N.W., Beal M.F. Brain Res 1991; 542: 343—347.
77. Uemura Y., Kowall N.W., Moskowitz M.A. Brain Res 1991; 552: 99—105.
78. Vandromme M., Gauthier-Rouviere C., Lamb N., Fernandez A. Trends Biol Sci 1996; 21: 59—64.
79. Wang K., Yre T.L., Barone F.C. et al. Mol Chem Neuropathol 1994; 23 (2—3): 14103.
80. Waters C. RBl Neurotransmissions, Newsletter for Neuroscientist 1991; XII (2): 2—7.
81. Welsh F.A., Mayer D.J., Harris V.A. J Cereb Blood Flow Metab 1992; 12: 204—212.
82. Widmann R., Kuroiwa T., Bonnekoh P., Hossmann K. A. J Neurochem 1991; 56: 789—796.
83. Wu C., Wilson S., Walker B. et al. Science 1987; 238: 1247—1251.
84. Xie Y., Mies G., Hossmann K. A. Stroke 1989; 20: 620—626.
85. Yoshimine T., Hayakawa T., Kato A. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1987; 7: 387—393.
86. Zhou M., Wu X., Ginsberg H.N. J Biol Chem 1996; 271: 1769—1775.

Глава 8

Активация микроглии; высвобождение цитокинов; локальная воспалительная реакция

Исследования J.C. Wagon с соавт. [21], S.C. Chen с соавт. [22], M. Fisher, J.H. Garcia [54] показали, что в первые часы после развития ишемического инсульта в пострадавшей области мозга присутствуют нейроны с разной степенью структурно-функциональных изменений, в радиусе которых снижается по направлению от центрального некроза к периферическим зонам пенумбры. Закономерности процессов роста и распространения структурно-функциональных изменений внутри зоны пенумбры определяют окончательный размер инфаркта мозга на 3–5-е сутки заболевания, а их исследование является основой для разработки экспериментальных методов нейропротективной терапии [17, 54, 82, 143, 144, 151].

В зоне пенумбры быстрее и в большей степени, чем нейроны, поражаются глиальные клетки [132]. «Доисторическое» очаговое поражение в значительной мере связано с агрессивным воздействием возбужденных ишемией клеток глии на живые соседние нейроны перинфарктной зоны [59, 136].

Являясь единственным иммуннокомпетентным компартментом в центральной нервной системе, микроглия участвует во всех реакциях ткани мозга на ишемию [66, 115]. Ишемический процесс активирует микроглиальные клетки, приводя их в состояние готовности к фагоцитозу. На моделях экспериментальной церебральной ишемии было показано, что активированная микроглия оказывает выраженное нейротоксическое действие, внося существенный вклад в поражение зоны пенумбры [64, 119]. По мнению R.B. Janati с соавт. [20], нейротоксическое влияние микроглиальных клеток осуществляется по трем основным механизмам: с помощью продукции прямых нейротоксических факторов; продукции микроглиальных факторов, «запускающих» патобиохимические каскады, которые приводят к клеточной смерти, а также с помощью индукции местного воспалительного ответа.

Установлено, что при экспериментальной церебральной ишемии микроглия начинает продуцировать широкий спектр токсичных для ткани мозга соединений: провоспалительные цитокины [13], лиганды для glutаматного *NMDA* рецепторного комплекса [61, 62, 115], протеазы, катепсин *B*, лизосимы, эйкозаноиды (в том числе тромбоксан *B*₂), супероксидный анион, нитроксид [38, 40, 175], а кроме того, инициирует цитотоксическое действие астроцитов [93, 154]. Анализ перечня соединений, синтезируемых микроглиальными клетками, свидетельствует об активном и согласованном с другими клеточными пулами участии активированной микроглии во всех

основных процессах глутамат-кальциевого каскада, поддерживающем глутаматную «эксайтотоксичность», активацию внутриклеточных ферментов, свободнорадикальные реакции, перекисное окисление липидов (см. схему 4.1). Наряду с этим микроглия выполняет и специализированные иммунные функции, индуцируя и поддерживая воспалительную реакцию в очаге ишемии, что в конечном итоге ведет к отсроченным нейрональным потерям, изменениям микроциркуляции и гематоэнцефалического барьера [112, 113, 171].

Многочисленные экспериментальные исследования продемонстрировали, что даже незначительное повышение концентрации провоспалительных факторов способствует прогрессированию атерогенеза и развитию хронической ишемизации головного мозга с формированием энцефалопатии [67, 101, 111, 172].

При ишемическом инсульте у экспериментальных животных происходит резкий подъем уровней провоспалительных агентов, что создает условия для острой и отсроченной гибели клеток, окружающих зону первичного некроза, а кроме того, определяет темпы и выраженность дальнейшего прогрессирования атерогенеза. Таким образом, локальное воспаление, как и реакции оксидантного стресса, замыкает порочный круг формирования мозговой недостаточности [2, 8, 23, 53].

Особая значимость реакций микроглии в процессе «дифференцирования» инфаркта мозга делает ее уникальной клеточной мишенью в лечении инсульта [114, 147, 165, 166, 176]. Это подтверждается уменьшением нейрональных потерь у крыс с экспериментальной моделью ишемического инсульта при фармакологическом угнетении микроглии [62, 100]. Однако полное подавление микроглии, безусловно, не может найти применения в клинике в связи с множеством ее функций, необходимых для нормальной жизнедеятельности мозга. Глия является частью трофического обеспечения нервной системы, а также принимает активное участие в специфическом функционировании нервной ткани [10]: в норме тормозит гиперактивность нейронов [39], способствует активному поглощению из синаптической щели и утилизации клеткой продуктов других агентов, участвующих в повреждении нейронов [130]. В условиях ишемии микроглиальные клетки индуцируют синтез не только нейротоксичных веществ, но и сигнальных молекул, клеточных регуляторов, трофических факторов, способствующих выживаемости нейронов и уменьшающих процессы постинфарктного рубцевания [28, 102]. Вещества, обуславливающие в очаге ишемии как повреждение, так и систему поддержки жизнеспособности клеток, представлены широким спектром регуляторных пептидов, включающих цитокины, нейротрофические модуляторные факторы [98].

Цитокины — это специфические иммунные медиаторы, представляющие собой небольшие растворимые полипептиды. Они продуцируются иммунокомпетентными (Т-клетки, макрофаги, микроглия) и неиммунокомпетентными (нейроны, астроциты) клетками [31]. На сегодняшний день идентифицировано более 40 цитокинов, которые сгруппированы в несколько больших семейств: интерлейкины (ИЛ), факторы некроза опухоли (ФНО), интерфероны (ИФН), трофические факторы. Условно принято деление цитокинов на регуляторные, или противовоспалительные (ИЛ-10, ИЛ-4, трофические факторы) и провоспалительные (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухоли — ФНО и др.) [45, 69, 88].

В мозге цитокины организованы в невральные и глиальные компартменты, а также широко распространены в дискретных сетях. Они действуют аутокринно (стимулируют дальнейшую пролиферацию моноцитов) и

паракринно (воздействуют на нейроны и эндотелиальные клетки). Связываясь со специфическими рецепторами, цитокины активируют системы вторичных внутриклеточных мессенджеров, включая протеинкиназы и фосфатазы [127].

Важно отметить, что ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α и некоторые другие цитокины регулируют функцию гипоталамо-гипофизарной системы, непосредственно воздействуя на передний гипофиз и осуществляя стыковку между нейроиммунной и нейроэндокринной системами [14] (рис. 8.1). Доказано, что один из наиболее мощных цитокинов — ИЛ-1 — влияет на все уровни гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, увеличивая секрецию кортикотропного релизинг-гормона, АКТГ, глюкокортикоидов [14—16], релизинг-фактора лютеинизирующего гормона [106], а также предположительно и других гормонов: соматотропного, фолликулостимулирующего, лютеинизирующего, пролактина [159]. Таким образом, можно предположить общность сигнальных систем, используемых иммунными и нейроэндокринными клетками. Тесное взаимодействие между цитокинами и гормонами на центральных и периферических уровнях обуславливает гормональные ответы на усиление экспрессии цитокинов. Это объясняет включение стресс-реализующих эндокринных систем в ответ на ишемию мозга в рамках общей реакции нейроиммуноэндокринной системы (см. главу 11).

Из-за свойственной цитокинам плеiotропности трудно дать упрощенное представление об их функции. Цитокины контролируют рост, дифференцировку и функции большинства типов клеток; модулируют нейроэндокринную и терморегуляцию, регуляцию сна, прием пищи и поддержание стабильной массы тела, когнитивные функции и поведение, выносливость. Иммунные медиаторы играют особую роль в запуске реакций воспаления и нарушений микроциркуляции и проницаемости гематоэнцефалического барьера, участвуют в механизмах смерти и выживания нейронов.

Семейство лигандов ИЛ-1 состоит из трех изоформ: ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и ИЛ-1 γ (антагонист рецептора ИЛ-1), которые кодируются тремя различными генами, но распознаются одинаковыми рецепторами ИЛ-1 типа I (ИЛ-1R) с сопоставимой аффинностью [42]. ИЛ-1 α и ИЛ-1 β биоактивны и приводят к разнообразным реакциям в клетках-мишенях. ИЛ-1 β синтезируется как большая проинтерлейкина, которая биологически неактивна; она разделяется на части с массой 17 кД и становится активной под действием ИЛ-1 β -конвертирующего фермента (ICE). Микродозы ИЛ-1 вырабатываются в норме у здоровых людей, способствуют индукции антиоксиданта — супероксиддисмутазы в нейронах, пролиферации астроглии [94]. В условиях патологии, в том числе ишемии, выработка ИЛ-1 микроглией является главным активным сигналом для индукции других провоспалительных цитокинов, а также стимуляции астроцитов к продукции потенциальных нейротоксичных веществ, таких как NO * и метаболиты арахидоновой кислоты [174]. Как установлено в последнее время, экспрессия гена ИЛ-1 в мозге вызывает вторичную экспрессию гена iNOS, что является причиной избыточного синтеза метаболитов NO * [174].

Повышенная продукция ИЛ-1 β в условиях глобальной и фокальной ишемии продемонстрирована на животных моделях [33, 117]. Рекомбинированный человеческий ИЛ-1 β , введенный в желудочки мозга крыс, подвергшихся 60-минутной окклюзии средней мозговой артерии с последующей реперфузией, достоверно увеличивал отек мозга и размер церебрального инфаркта, а также количество адгезированных к эндотелию и инфильт-

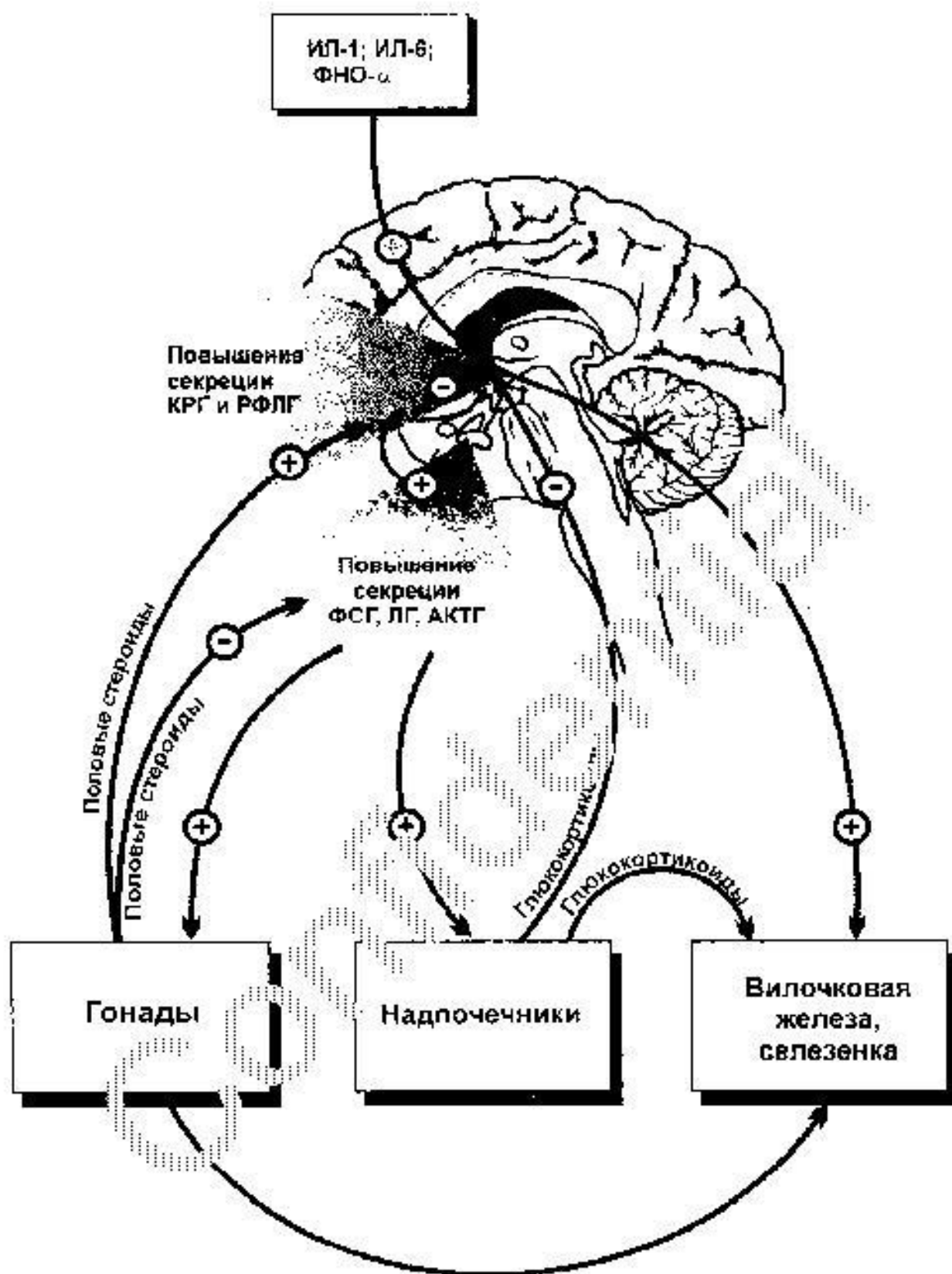


Рис. 8.1. Влияние цитокинов на реализацию гормонального ответа при острой церебральной ишемии.

Красными стрелками показаны активирующие влияния, синими — тормозящие.

рирующих область ишемии нейтрофилов [178]. Выраженность данных эффектов линейно коррелировала с введенной дозой цитокина.

В то же время в ответ на экспрессию ИЛ-1 β в аденогипофизе секретируется изоформа ИЛ-1 α , которая в противоположность ИЛ-1 β является эндогенным протективным агентом. По экспериментальным данным, протективный эффект экзогенного ИЛ-1 α проявляется в 40 % случаев острой фокальной церебральной ишемии [174]. При нейтрализации биологической активности ИЛ-1 α отмечается усиление гибели нейронов в ишемизированной области мозга. Доказано, что мРНК ИЛ-1 α всегда сопровождает мРНК ИЛ-1 β . Токсические эффекты ИЛ-1 β и ингибиторов ИЛ-1 α на нейроны реализуются как непосредственно, так и опосредованно через влияние на глиальные и эндотелиальные клетки. Понимание молекулярных механизмов экспрессии ИЛ-1 α и ИЛ-1 β в головном мозге в первые часы после ишемического инсульта позволит разработать новые терапевтические стратегии для предотвращения отсроченной гибели клеток.

Действие ФНО- α — плейотропного полипептида, вырабатываемого нейтрофилами, активированными макрофагами, астроцитами и эндотелиальными клетками [34], во многом сходно с действием ИЛ-1 [51, 104]. Благодаря широкой распространенности рецепторов к этому ФНО- α активирует различные пути сигнальной трансдукции: индуцирует и угнетает экспрессию генов факторов транскрипции и роста, экспрессию рецепторов, острофазных белков, что объясняет сложное иммуномодулирующее действие этого цитокина [107]. A. Jones и P. Selby [8] установили митогенность ФНО- α для определенных типов клеток.

У больных с ишемическим инсультом обнаружено более высокое содержание ФНО- α в плазме крови, чем у здоровых людей [48]. Зарегистрирована дополнительная выработка ФНО- α на кровеносных сосудах и астроцитах в области ишемического повреждения, сопровождающаяся активной воспалительной реакцией [79], при этом содержание ФНО- α на микроглиальных клетках варьирует в зависимости от остроты воспаления. Показано, что ФНО- α имеет отношение к повреждению миелина и олигодендроцитов [51, 52, 104]. Этим объясняют, что на моделях острой фокальной ишемии мозга продемонстрировано, что цитокины ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , ФНО- α являются ключевыми медиаторами микроглиальных нейроиммунных функций [24, 26, 137] и что они образуются локально в ответ на ишемизацию головного мозга [18]. Уже через 1 ч после реперфузии в ишемизированной коре мозга крысы при окклюзии средней мозговой артерии отмечено значительное и достоверное увеличение количества м-РНК ИЛ-1 β и ФНО- α [51, 52]. Вместе с тем остается неясным вопрос о взаимоотношении нейротоксических и нейропротективных свойств данного цитокина. В экспериментах *in vivo* [174] показано, что ФНО- α не только не оказывал токсического влияния на нейроны центральной нервной системы, но и, более того, способствовал регенерации поврежденных аксонов и защищал культивированные нейроны. A.J. Вгисе с соавт. [30] в экспериментальной работе продемонстрировали развитие большего по объему инфаркта мозга после окклюзии средней мозговой артерии у мышей с генетическим недостатком рецепторов к ФНО- α , а введение цитокина за 48 ч до окклюзии имело нейропротективный эффект. Увеличение выраженности и распространенности повреждения нейронов у ФНО- α -негативных животных было обусловлено усилением процессов оксидантного стресса и снижением уровня антиоксидантных ферментов. Это позволило предположить, что нейропротективные свойства ФНО- α связаны со стимуляцией антиоксидантных механизмов.

Авторы пришли к заключению, что медикаменты, направленные на сигнальные пути ФНО- α , могут быть полезными в лечении инсульта.

Таким образом, роль ФНО- α при ишемическом инсульте в настоящее время представляется неоднозначной. Увеличение содержания ФНО- α в макрофагах инфарктной ткани и в нейронах ишемизированной области мозга, с одной стороны, вызывает экспрессию проадгезивных молекул на эндотелии, что приводит к скоплению лейкоцитов, адгезии и миграции их из капилляров в мозг; с другой стороны, способствует ремоделированию ткани, регулирует глиоз и формирование рубца [51, 52, 104]. Это позволило L. Pantoni с соавт. [127] сделать вывод о необходимости поддержания повышенных уровней ФНО- α в ближайшее время после развития острой фокальной ишемии мозга для последующего лучшего восстановления утраченных функций.

Исследования ИЛ-6 — мультифункционального протеина, продуцируемого активированными моноцитами, макрофагами, а также эндотелиальными клетками [81], при экспериментальной церебральной ишемии доказали его значимость в регуляции острофазного ответа и формировании инфарктных изменений наряду с ИЛ-1 и ФНО- α [11]. X. Wang со авт. [162] выявили в ишемизированной коре мозга крыс детство, значительное увеличение м-РНК ИЛ-6 через 3 ч после постоянной окклюзии средней мозговой артерии, которое возросло в 10 раз через 12 ч и оставалось повышенным только в ишемизированной зоне еще по крайней мере 24 ч. Отмечено, что ИЛ-1 и ФНО- α являются мощными индукторами ИЛ-6, так как в астроцитах [79]: быстрое увеличение содержания микроглияльного ИЛ-1 β в первые 1—2 ч церебральной ишемии вызывает усиленную синтез ИЛ-6, повышенные концентрации которого определяются от 3 до 6 ч — лишь через 3—6 ч.

Важным представляется также обнаружение у больных с хроническими и острыми формами ишемической болезни мозга повышенных концентраций ИЛ-8 — протеина, принадлежащего к α -X-C-семейству хемокинов и структурно представляющего комбинацию цитокина и хемотаксанта для лейкоцитов [23, 50, 168]. ИЛ-8 обладает выраженными провоспалительными свойствами [57, 140], вызывает экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам, что свидетельствует о его основной роли в опосредовании воспалительного ответа и формировании отека мозга [25, 56, 97, 133, 134].

Таким образом, экспериментальные исследования выявили повышение концентрации при воспалительных цитокинах (ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8) в условиях фокальной ишемии мозга, что сопровождается развитием локального воспаления в очаге ишемического повреждения. Уровни провоспалительных цитокинов остаются достоверно повышенными в течение нескольких дней после развития инсульта, что свидетельствует об интенсивности воспалительных реакций и их роли в процессах повреждения ткани мозга [161].

Одним из основных этапов организации местной воспалительной реакции и вторичного повреждения мозговой ткани при ишемическом инсульте является активация провоспалительными цитокинами сосудистого эндотелия [89, 163]. Результатом является индукция молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) на поверхности эндотелия. ФНО- α и интерферон- γ (IFN- γ), секретированный активированными Т-клетками, привлекают на поверхность нейронов и астроглии антигены I и II классов главного комплекса гистосовместимости [24]. Особенно мощными регуляторами-индукторами молекул лейкоцитарно-эндотелиальной адгезии (CD11a и CD18) являются

ИЛ-1 β и ФНО- α . Активированный ими ИЛ-8 предположительно играет решающую роль в запуске миграции лейкоцитов из сосудистого просвета в зону фокальной ишемии с инфильтрацией ими поврежденной ткани [137, 178]. Лабораторные анализы цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом через 2—3 дня после дебюта заболевания подтвердили повышение в ней содержания лейкоцитов [148]. Исследования с радиоактивной меткой выявили большое количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в областях мозга со сниженной перфузией уже через 6—12 ч после дебюта инсульта [12]. При патологоанатомическом исследовании описана интенсивная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы мозга на 2—3-и сутки инсульта [37]. Пришедшие из системного кровотока лейкоциты (сначала нейтрофилы, затем моноциты) усиливают разрушение мозговых клеток своими токсичными продуктами, фагоцитарным действием и иммунными реакциями [72, 91, 93, 94, 181].

Важными клетками-мишенями для цитокинов являются астроциты, осуществляющие последовательное распространение их эффектов. Цитокины увеличивают синтез колониестимулирующих факторов (CSF-1 и GM-CSF) астроцитами, что в свою очередь активирует митоз клеток микроглии и видоизменяет их поверхность для антигенной экспрессии, усиливая антигенозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность [127]. Таким образом создаются порочные круги возбуждения. При экспериментальных поражениях мозга, демонстрирующих селективную гибель нейронов, астроциты резко увеличивают продукцию острофазных цитокинов, которые действуют как ингибиторы различных протеинов и факторов роста [129]. К острофазным белкам 1-го класса, выработка которых стимулируется ИЛ-1 и ИЛ-6, относятся С-реактивный белок (CRP) и факторы комплемента [8, 9, 149]; к острофазным белкам 2-го класса, синтез которых индуцируется ИЛ-6, — α_2 -макроглобулин и α_1 -антихриоматин [125]. Последовательность каскадных реакций, вызываемых увеличенной продукцией острофазных белков, чрезвычайно сложна. На более изложены каскады, триггерами которых являются факторы комплемента, ведущие в конечном итоге к лизису клеток через комплекс мембранных атак. Экспериментальные исследования показали, что традиционный маркер соматических воспалительных процессов СРБ, как и провоспалительные цитокины, отражает «активность» ишемических процессов в мозге и является прогностическим фактором исхода острой ишемии [87, 96, 128, 135, 145]. Необходимо отметить, что в терапевтической практике у больных с ишемической болезнью сердца, хроническим воспалением соединительнотканых и костных структур обнаружена взаимосвязь между динамикой уровня СРБ в первые дни заболевания и тяжестью его клинического течения и исхода [8, 9, 74, 105, 118].

Возбужденными цитокинами астроглия усиливает синтез наряду с острофазными белками и других регуляторных молекул: NO, эндотелиального релаксирующего фактора, cGMP [141, 169] и, таким образом, влияет на процессы оксидантного стресса и глутаматной «эксайтотоксичности».

Результаты экспериментальных исследований позволили предположить, что прогрессирование повреждения зоны пенумбры на фоне острой фокальной ишемии мозга может происходить не только под влиянием абсолютного увеличения концентрации провоспалительных агентов, но и вследствие недостатка противовоспалительных и нейротрофических факторов [18, 28, 35, 60, 84, 102, 116, 123]. С.С. Chen и А.М. Mapping [35] установили, что предварительное введение противовоспалительных цитокинов (TGF- β_1 , ИЛ-10) достоверно угнетает выработку ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и

ФНО- α . Максимальное угнетение достигалось относительно физиологическими дозами (1–2 нг/мл) *TGF- β* , или ИЛ-10. Защитное противоишемическое действие *TGF- β* было продемонстрировано в экспериментальных исследованиях [18–20, 68, 89, 142, 160, 165] и проявлялось угнетением адгезии лейкоцитов к эндотелию [147], подавлением выработки макрофагами повреждающих кислородных и *NO*-метаболитов [43, 77, 158]. Было показано, что нейропротективная способность *TGF- β* связана также со стабилизацией нейронального кальциевого гомеостаза [131] и повышением экспрессии гена *bcl-2* (см. главу 10), что приводит к значительному торможению свободнорадикального повреждения, замедлению процессов некроза и апоптоза [47, 58, 80, 86]. Установлена важная роль *TGF- β* в увеличении васкуляризации ткани мозга после острой церебральной ишемии, особенно в зоне пенумбры [99].

Исследования, посвященные ИЛ-10, показали, что этот цитокин является мощным регулятором клеточно-опосредованного иммунного ответа моноцитов/макрофагов: снижает продукцию простагландин E_2 , угнетает экспрессию *ICAM-1*, активно участвующих в развитии местного воспаления [95], подавляет выработку многочисленных провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 [92]. Было обнаружено также подавляющее действие ИЛ-10 на синтез супероксидного аниона и реактивных промежуточных продуктов обмена кислорода [92], подавляющее влияние на синтез *NO* в зависимости от продолжительности воздействия на активированные макрофаги [40]. Содействие синтезу *NO* является одним из многочисленных активирующих эффектов ИЛ-10 на моноциты/макрофаги наряду с индукцией им выработки антагониста рецептора для ИЛ-1 (ИЛ-1ра) [170]. Таким образом, ИЛ-10 является фактором, модулирующим функцию макрофагов и обладающим мощной противовоспалительной активностью.

8.1. Динамика содержания про- и противовоспалительных цитокинов, С-реактивного белка в цереброспинальной жидкости больных ишемическим инсультом

Несмотря на обширный экспериментальный материал, в литературе встречаются лишь единичные упоминания о клинических исследованиях, посвященных феномену локального воспаления и его роли при острой фокальной церебральной ишемии у человека, которые носили фрагментарный характер и не были выполнены в мониторинговом режиме.

В связи с этим нами совместно с Институтом молекулярной генетики РАН (Н.С. Мясоедов с сотр.) и кафедрой ревматологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (Е.Л. Насонов с сотр.) [2, 3, 5, 7, 70] было проведено комплексное клинко-иммунобиохимическое изучение цитокинового статуса и С-реактивного белка у 50 больных (28 мужчин и 22 женщины; средний возраст $64 \pm 1,8$ года) с острым ишемическим инсультом в системе внутренней сонной артерии (в 26 случаях — левой, в 24 — правой), 20 из которых поступили в нейрореанимационное отделение в первые 2–5 ч, 30 — спустя 6–12 ч от начала заболевания. В исследование не включали больных с острыми воспалительными, наследственно-дегенеративными и аутоиммунными заболеваниями. Основными этиологическими факторами инсульта явились сочетание атеросклероза с артериальной гипертензией (80,9 % больных), атеросклероз без артериальной гипертен-

зии (11,8 %), артериальная гипертензия у лиц молодого возраста (7,3 %). У 81,1 % больных выявлены признаки ишемической болезни сердца. У 43 (86 %) больных инсульт имел атеротромботический характер, у 6 (12 %) — кардиоэмболический, у 1 (2 %) — гемодинамический на фоне острого инфаркта миокарда. Микроциркуляторных (лакунарных) инсультов не было.

С момента поступления в клинику больные получали комплексную максимально унифицированную терапию, направленную на коррекцию нарушений дыхания и сердечно-сосудистой системы, кислотно-основного и водно-электролитного баланса (по показаниям), борьбу с отеком мозга (по показаниям), улучшение перфузии ткани мозга с применением гемодилюции, антиагрегантов, антикоагулянтов с проведением при необходимости антикоагулянтной терапии (под контролем лабораторных данных). Нейропротективные препараты в лечении не использовали.

Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологических нарушений, а также для стандартизации обработки клинического материала и проведения статистического анализа по группам применяли три взаимодополняющие клинические шкалы: Гиндзавскую [139], Ортогозо [126] и оригинальную [1].

В момент поступления у 29 больных состояние оценивали по средней тяжести (суммарный клинический балл по шкалам — соответственно $32,3 \pm 1,8$; $52,1 \pm 2,7$; $39 \pm 0,5$), в клинической картине преобладали очаговые неврологические расстройства, которые в 15 % случаев сочетались с негрубой общемозговой симптоматикой. У 21 больного состояние при поступлении было тяжелым (суммарный клинический балл — соответственно $22,3 \pm 2,3$; $35,6 \pm 3,5$; $32,06 \pm 2,7$), отмечались различной выраженности общемозговые симптомы, включая изменение сознания (до уровня оглушения у 3 пациентов, сопора — у 15, комы — у 3 человек).

Количественное определение концентрации провоспалительных (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-8) и противовоспалительных (TGF- β , ИЛ-10) цитокинов, а также СРБ в цереброспинальной жидкости проводили с помощью иммуноферментного анализа (*Enzygnost ELISA Assay* — *ELISA*) дважды: в момент поступления больного в стационар (до начала лечения) и на 3-и сутки заболевания. Для определения цитокинов использовали коммерческие иммуноферментные наборы фирм *Sigma* (США).

Моноклональные антитела, специфичные к исследуемому цитокину, были иммобилизованы на 96-луночные полистироловые микропланшеты для иммуноферментного анализа. Стандартный раствор и образцы заливали в лунки. Присутствующий в растворах исследуемый цитокин связывался иммобилизованными моноклональными антителами. После процедуры отмывания несвязавшихся субстанций в лунки добавляли энзим-связанные поликлональные антитела, специфичные к исследуемому цитокину. После повторного отмывания несвязавшихся субстанций добавляли раствор субстрата. Развивалась цветная реакция, соответствующая количеству связавшегося на предыдущем этапе цитокина. Реакцию останавливали добавлением 2 л раствора серной кислоты. Интенсивность реакции оценивали с помощью *ELISA*-ридера. Построение логарифмической кривой для определения концентраций исследуемых веществ в цереброспинальной жидкости в зависимости от полученных на *ELISA*-ридере величин их оптической плотности осуществляли с помощью специальной компьютерной программы *TITERSOFT*, обеспечивающей оптимальную точность расчетов.

В качестве нормативных использовали пробы цереброспинальной жидкости 20 плановых ортопедических больных, у которых не было неврологических нарушений и воспалительных проявлений (контрольная груп-

па). Средние уровни цитокинов и СРБ в контроле составили: ИЛ-1 β — $0,7 \pm 0,01$ пг/мл; ФНО- α — $11 \pm 0,9$ пг/мл; ИЛ-8 — $101,8 \pm 34,7$ пг/мл; ИЛ-10 — $30,27 \pm 6,3$ пг/мл; TGF- β_1 — $91,16 \pm 3,34$ пг/мл; СРБ — $9 \pm 0,01$ мкг/мл.

Для проведения клинико-иммунобиохимических сопоставлений оценивали приросты суммарных клинических баллов по применявшимся шкалам к 5-м (конец острейшего периода) и 21-м (конец острого периода) суткам инсульта, а также относительные величины динамики концентраций цитокинов и СРБ к 3-м суткам (K_3), вычисляя их по формуле:

$$K_3 = (n_3 - n_1) : n_1 \times 100 \%,$$

где n_1 и n_3 — значения концентраций на 1-е и 3-и сутки заболевания.

Статистический анализ несвязанных переменных (клинических и иммунобиохимических показателей) проводили с помощью U-теста Манна—Уитни. Летальность оценивали с помощью теста Фишера. Корреляционному анализу были подвергнуты значения прироста клинических баллов по применявшимся шкалам, исходные значения и показатели прироста цитокинов и СРБ. Различия между показателями признавали существенными при 5 % уровне во всех проведенных сравнениях.

У всех исследованных больных при поступлении (первые 12 ч инсульта) был выявлен дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов. На момент госпитализации в 100 % образцов цереброспинальной жидкости отмечалось достоверное повышение (по сравнению с контролем) уровня провоспалительных цитокинов — ИЛ-1 β ($14,4 \pm 9,2$ и $0,7 \pm 0,01$ пг/мл; $p < 0,001$) и ФНО- α ($22,8 \pm 4,7$ и $11 \pm 0,9$ пг/мл; $p < 0,05$), являющихся триггерами воспалительного ответа, а также СРБ ($31,42 \pm 9,21$ и $9 \pm 0,01$ мкг/мл; $p < 0,001$) при тенденции к снижению содержания противовоспалительных цитокинов — ИЛ-10 и TGF- β_1 (рис. 8.2). Выявленное нами повышение уровня провоспалительных цитокинов совпадало с результатами клинического исследования E. Talarowska соавт. [153], которые обнаружили в 1-е сутки ишемического инсульта увеличение концентрации провоспалительного ИЛ-6, а также наличие положительной корреляционной связи между его уровнем и последующим размером повреждения мозга.

У пациентов, поступивших в неврологическое отделение в первые 2–5 ч заболевания, уровни ИЛ-1 β и ФНО- α были достоверно ниже, чем в группе поступивших спустя 6–12 ч после развития инсульта (ИЛ-1 β — соответственно $2,5 \pm 1,7$ и $6,73 \pm 0,4$ пг/мл, $p < 0,001$; ФНО- α — $18,5 \pm 5,6$ и $38,7 \pm 9,2$ пг/мл, $p < 0,05$). Аналогичная тенденция наблюдалась и для ИЛ-8 ($134,8 \pm 36$ и $187,5 \pm 69$ пг/мл), что доказывает отсроченность локальных воспалительных реакций по отношению к быстрым механизмам глутаматкальциевого каскада, которые реализуются в пределах «терапевтического окна» (см. рис. 8.3).

Была выявлена тесная корреляционная зависимость содержания ИЛ-1 β в 1-е сутки инсульта с концентрацией СРБ в 1-е сутки ($r = 0,59$) (рис. 8.3) и динамикой объема инфарктных изменений (по данным МРТ головного мозга) от 1-х к 5-м суткам заболевания. Однако степень прироста концентрации ИЛ-1 β к 3-м суткам не влияла, по данным корреляционного анализа, на динамику концентрации индуцируемого им СРБ и исход заболевания, что косвенно свидетельствовало лишь о пусковой роли ИЛ-1 β в инициации воспалительного процесса (рис. 8.4).

В то же время определена тесная обратная корреляция между относительным приростом уровня ИЛ-8 к 3-м суткам инсульта и приростом суммарного клинического балла к 5-м ($r = -0,79$) и 21-м ($r = -0,73$) суткам

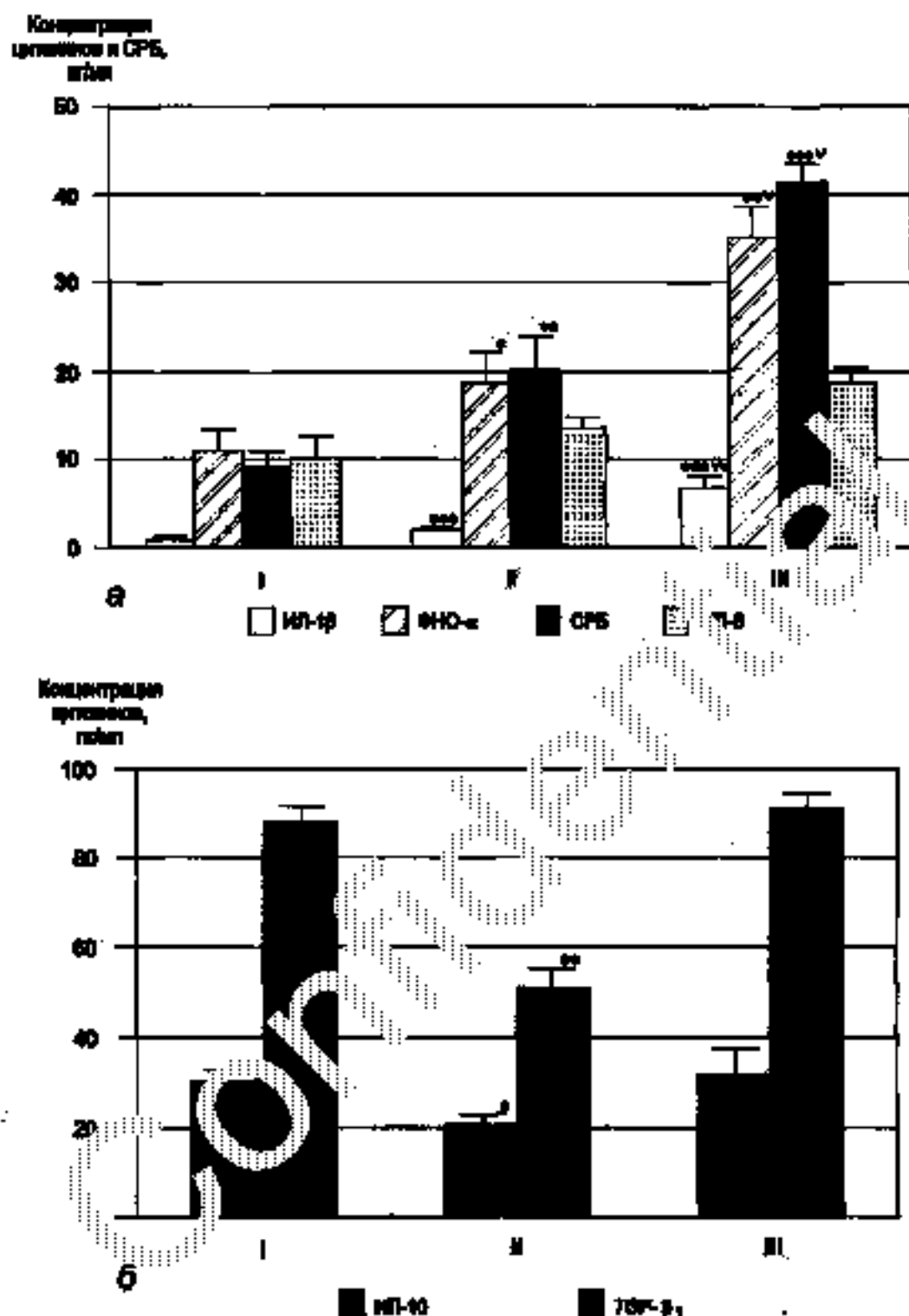


Рис. 8.2. Концентрация цитокинов в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

Концентрации CRP — в мкг/мл. I — норма; II — 2–5 ч; III — 5–12 ч после развития инсульта. Достоверность различий по сравнению с нормой: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$; достоверность различий по сравнению с показателями в паре 2–5 ч: v — $p < 0,05$, w — $p < 0,001$.

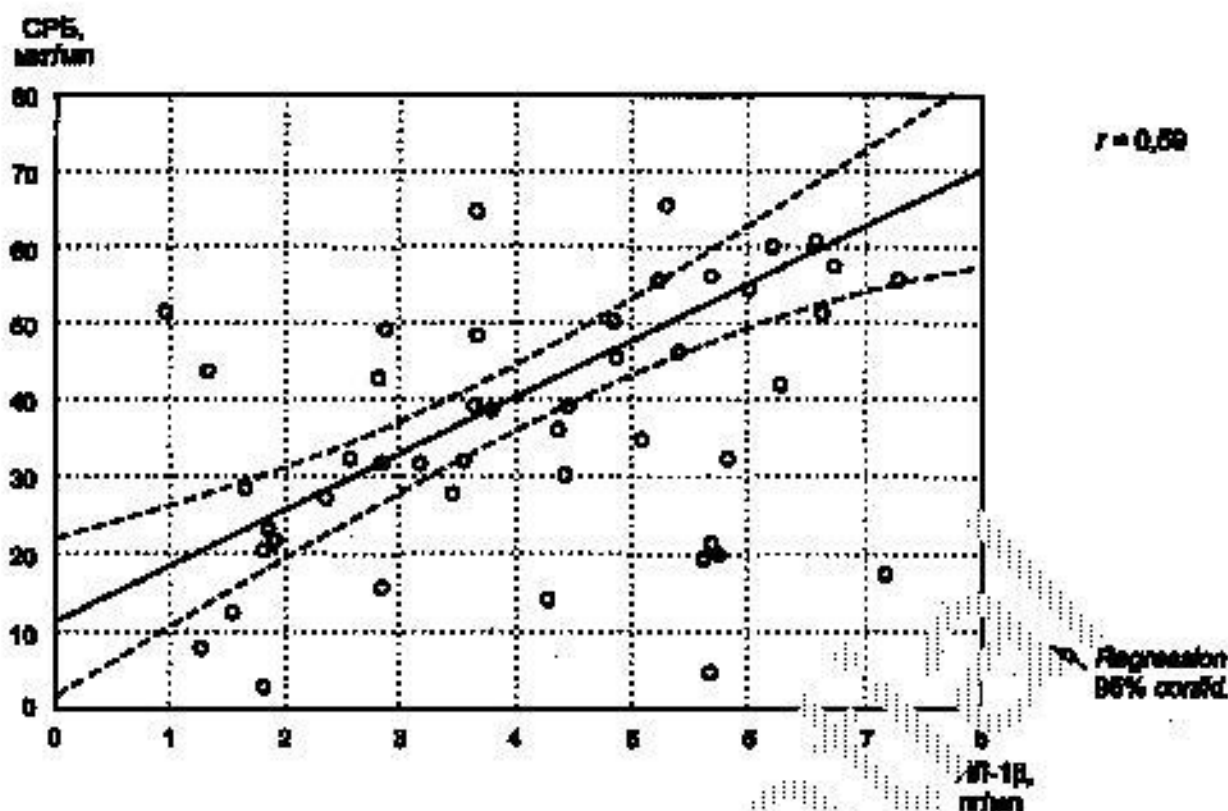


Рис. 8.3. Корреляционная зависимость между концентрациями ИЛ-1 β и СРБ в цереброспинальной жидкости больных с крупным ишемическим инсультом в первые часы заболевания.

(см. рис. 8.4), что, по-видимому, отражает участие хемоаттрактанта ИЛ-8 в развитии воспалительного процесса на протяжении первых дней заболевания: привлечение потенциально патогенного пула лейкоцитов в очаг ишемии, повышении проницаемости гематоэнцефалического барьера и формировании отека головного мозга [56, 97, 133, 134].

Концентрация СРБ в цереброспинальной жидкости продолжала увеличиваться до 3-х суток инсульта (на 283,6 % по сравнению с показателем 1-х суток; $p < 0,05$). При этом степень увеличения отрицательно коррелировала с приростом суммарного клинического балла к 21-м суткам заболевания (r от $-0,43$ до $-0,54$ по разным клиническим шкалам), что подчеркивает неблагоприятную прогностическую значимость высоких значений СРБ в первые

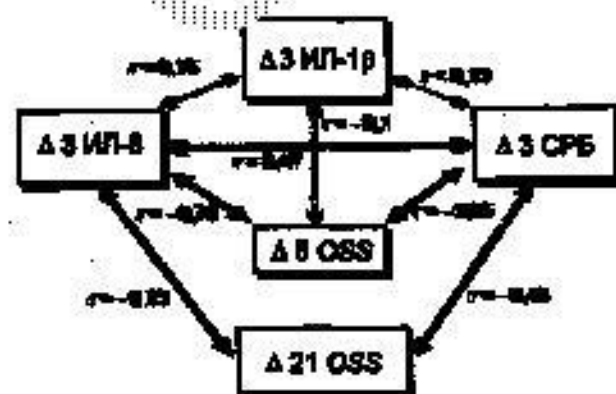


Рис. 8.4. Корреляционные зависимости между степенью прироста концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-8 и СРБ в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам и динамикой суммарного клинического балла по шкале Острогского к 5-м и 21-м суткам после развития каротидного ишемического инсульта.

Δ3 СРБ, %

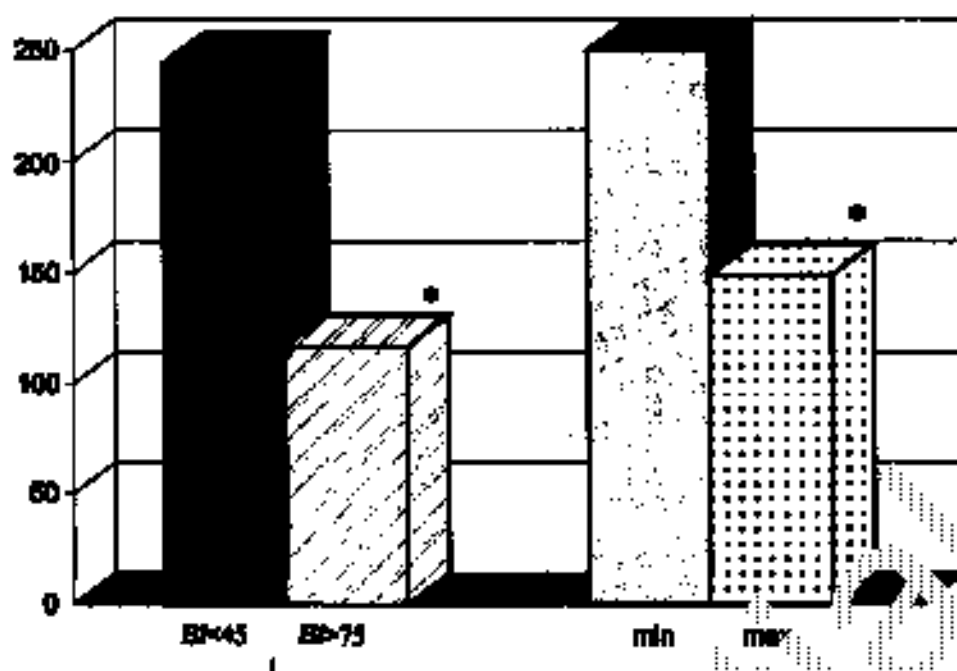


Рис. 8.5. Зависимость между степенью прироста концентрации СРБ в цереброспинальной жидкости и клинической динамикой (по шкале Барте́ла — B1 и шкале Оргогозо) у больных с каротидным ишемическим инсультом.

I — исход инсульта на 21-е сутки; II — прирост суммарного клинического балла к 5-м суткам (по шкале Оргогозо). Достоверность различий между однородными группами больных: * — $p < 0,05$.

дни ишемического инсульта (см. рис. 8.4). Согласно ретроспективному анализу динамики уровня СРБ у больных, у которых прирост имел место у пациентов с тяжелой инвалидизацией к концу острого периода инсульта (243,7 %) и с минимальным приростом суммарного клинического балла к 5-м (249,9 %) и 21-м (253,6 %) суткам. Вместе с тем минимальный прирост концентрации СРБ выявлен у группы больных с хорошим восстановлением нарушенных неврологических функций к концу острого периода заболевания (106,8 %; $p=0,05$ в сравнении с группой тяжелоинвалидизированных) и максимальный прирост суммарного клинического балла к 5-м (148,6 %; $p<0,05$) и 21-м (161,1 %, $p<0,05$) суткам (рис. 8.5). Таким образом, значительный прирост уровня СРБ в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам инсульта является достоверным критерием неблагоприятного прогноза в дальнейшем восстановлении нарушенных неврологических функций, отражая значимость локальных воспалительных процессов в формировании инфарктных изменений в ткани мозга.

Не выявлено корреляции между изменением уровня ФНО-α к 3-м суткам заболевания и его клиническим исходом. Однако исследование динамики ФНО-α позволило уточнить его неоднозначную роль в патогенезе ишемического инсульта. Установлена обратная корреляция между приростом уровней ФНО-α и СРБ ($r=-0,44$), т.е. при прогрессирующей к 3-м суткам инсульта воспалительной реакции, сопровождавшейся дальнейшим увеличением концентрации СРБ, уровень ФНО-α снижался (рис. 8.6). Косвенное доказательство неблагоприятной прогностической значимости уменьшения концентрации ФНО-α к 3-м суткам заболевания соответство-

Δ СРБ, %

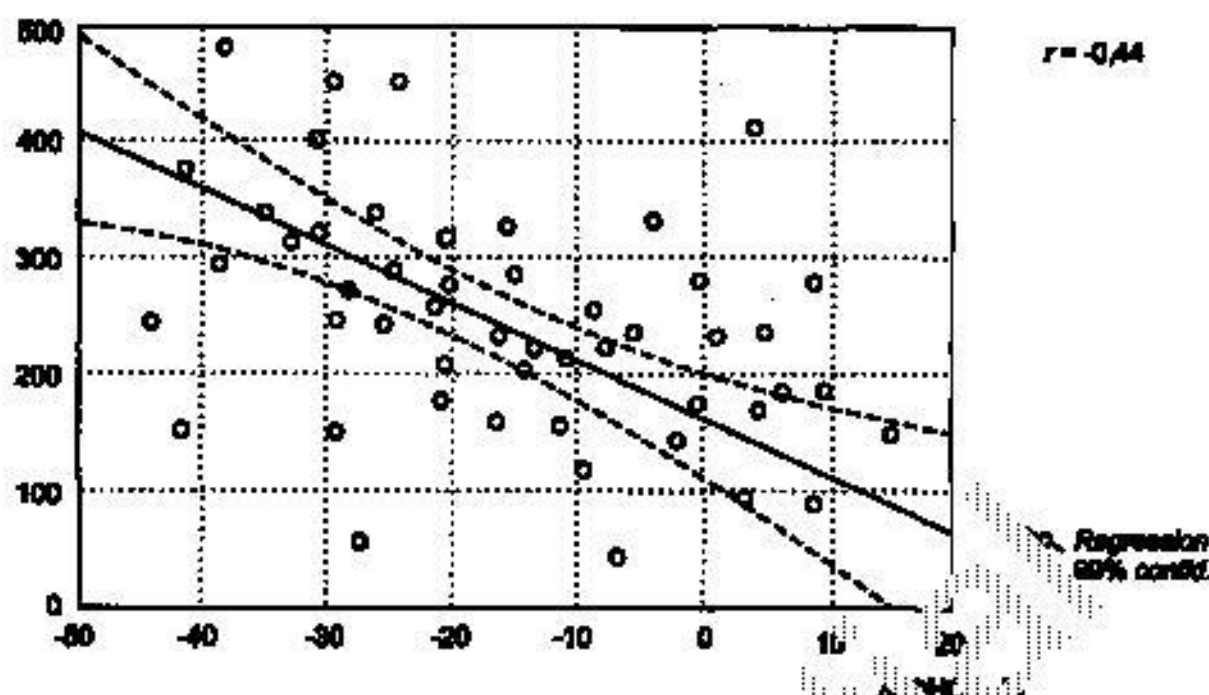


Рис. 6.6. Корреляционная зависимость между динамикой содержания ФНО-α и СРБ в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

вало экспериментальным данным о влиянии модулирующей деятельности этого цитокина, участвующего в инициации воспалительного процесса сразу после ишемизации мозга, а затем в его протекании, уменьшении размеров инфаркта мозга и восстановлении тканевого гомеостаза [107, 127].

Уровень плеiotропного провоспалительного цитокина ИЛ-10 в первые часы инсульта ($24,1 \pm 5,3$ пг/мл) значимо не отличался от нормы ($30,2 \pm 6,3$ пг/мл). К 3-м суткам инсульта относительный прирост концентрации ИЛ-10 составил 34 %, имел положительную корреляцию с приростом трофотропного цитокина $TGF-\beta_1$ ($r = 0,86$) и отрицательную с приростом СРБ ($r = -0,51$; $p = 0,02$). Полученные результаты свидетельствуют о синергичности действия ИЛ-10 и $TGF-\beta_1$, что согласуется с выводами экспериментальных работ С. С. Chen, A.M. Manning [35]. Усиленная выработка ИЛ-10, возможно, положительно влияет на исход заболевания.

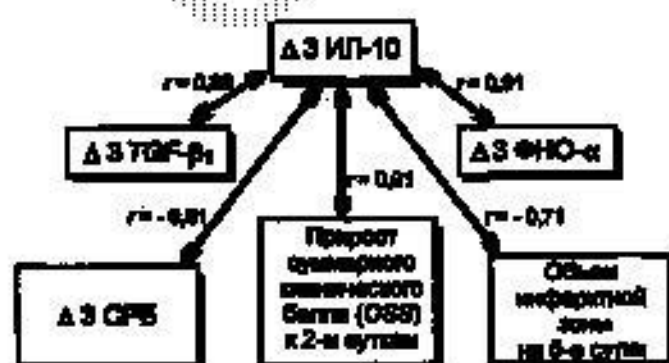


Рис. 6.7. Корреляционные зависимости между динамикой содержания цитокинов к 3-м суткам, приростом суммарного клинического балла (по шкале Оргопэзо) к 21-м суткам и объемом инфарктной зоны на 5-е сутки после развития каротидного ишемического инсульта.

Таблица 8.1. Прирост (в %) уровня цитокинов и С-реактивного белка (СРБ) в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом к 3-м суткам заболевания в зависимости от тяжести состояния

	Изменения уровня цитокинов и СРБ					
	ИЛ-1 β	ИЛ-10	ТGF- β_1	ФНО- α	СРБ	
Средней тяжести	-27,6 $\pm$ 42,6	1,7 $\pm$ 0,34	9,7 $\pm$ 0,1	13,1 $\pm$ 9,5	34,7 $\pm$ 25,1	156,2 $\pm$ 73,0
Тяжелое	20,3 $\pm$ 33,1	-35,6 $\pm$ 10,5	36,1 $\pm$ 10,5	55,1 $\pm$ 17,6	91,7 $\pm$ 13,0	460,5 $\pm$ 99,4
<i>p</i>	>0,05	<0,01	<0,05	<0,05	<0,01	<0,01

Содержание в цереброспинальной жидкости TGF- β_1 в первые сутки инсульта также достоверно не отличалось от контрольного значения (соответственно 79,3 $\pm$ 31,4 и 91,1 $\pm$ 33,4 пг/мл; $p>0,05$) и нарастало к 3-м суткам инсульта на 63,2 %. Обнаружена отрицательная корреляция между динамикой уровня TGF- β_1 и приростом концентраций ИЛ-1 β и СРБ соответственно ($r = -0,56$ и $-0,51$) и положительная — с восстановительной клинической динамикой к 5-м ($r = 0,49$) и 21-м ($r = 0,91$) суткам инсульта. Одновременно установлена тесная высокодостоверная связь между приростом уровней ИЛ-10 и TGF- β_1 с ФНО- α ($r = 0,91-0,96$) к 3-м суткам инсульта, что еще раз подчеркивает репаративные иммуномодуляторные свойства ФНО- α (см. рис. 8.7).

Важно отметить, что изменения уровня ФНО отрицательно коррелировали с приростом ФНО- α , провоспалительного цитокина ИЛ-10 и трофотропного цитокина TGF- β_1 , что свидетельствует о нарастании воспалительного ответа на фоне недостаточных факторов защиты мозга.

Значимых различий иммунохимических паттернов между больными с лево- и правополушарным инсультом не выявлено.

При сравнении динамики иммунобиохимического паттерна к 3-м суткам инсульта в зависимости от его тяжести установлено, что в группе пациентов с состоянием средней тяжести по сравнению с тяжелобольными определялись тенденции к снижению уровня ИЛ-1 β , достоверно меньший прирост ИЛ-10 (на 1,7 и 36,1 % соответственно, $p<0,05$), СРБ (на 156,2 и 460,5 % соответственно, $p<0,01$) (табл. 8.1; рис. 8.8), ИЛ-10 (на 13,1 и 55,1 % соответственно, $p<0,05$) и TGF- β_1 (на 34,7 и 91,7 % соответственно, $p<0,01$) (рис. 8.9). Содержание ФНО- α практически не изменялось в группе пациентов со средней тяжестью болезни и значимо снижалось (на 35,6 %, $p<0,01$) в группе тяжелобольных (см. рис. 8.8). Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее значимыми критериями тяжести ишемического инсульта являются степень повышения уровня СРБ и степень снижения концентрации ФНО- α в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам заболевания. Это согласуется с клиническим наблюдением А. Ефегаторидис с соавт. [46], которые установили корреляцию нарастания уровня ФНО- α в плазме крови с хорошим прогнозом инсульта и значимым неврологическим улучшением. Увеличение содержания противовоспалительных и трофотропных факторов при тяжелом инсульте может быть следствием выраженного повышения уровня ИЛ-8 при обширных ишемических повреждениях головного мозга.

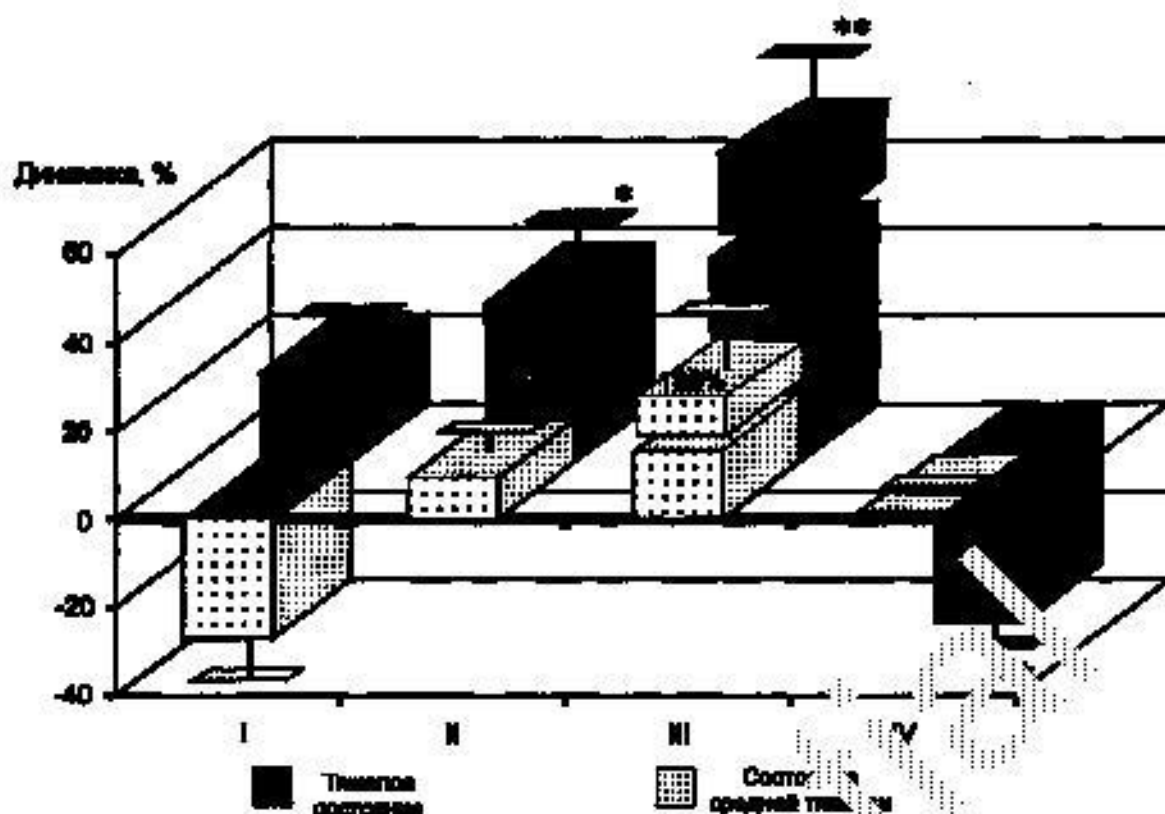


Рис. 8.8. Динамика уровня провоспалительных цитокинов и СРБ в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом в зависимости от тяжести заболевания.

I — ИЛ-1p; II — ИЛ-6; III — СРБ; IV — ФНО-α. Показано различие с группой больных с состоянием средней тяжести: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

Таким образом, проведенное клинико-иммунобиохимическое исследование выявило участие иммунных реакций и вызываемого ими локального воспаления в патогенезе ишемического инсульта и формировании инфарктных изменений в ткани мозга человека, продемонстрировало значимость не только избыточного вытеснения провоспалительных цитокинов, но и дефицита защитных противовоспалительных и трофических факторов в развитии воспалительного ответа, подтверждая данные экспериментов на моделях острой фокальной ишемии мозга у животных [22, 59, 60, 108, 127, 169].

Выявлена тесная корреляция выраженности иммунобиохимических изменений с тяжестью и клиническим исходом инсульта. Определение высокой прогностической значимости динамики уровня СРБ в цереброспинальной жидкости имеет несомненную практическую ценность, что связано с оперативностью, простотой и экономической доступностью его измерения в обычных лабораторных условиях. Факт прогностической значимости СРБ при ишемическом инсульте был подтвержден в недавнем клиническом исследовании K.W. Muir с соавт. [121].

Учитывая экспериментальные и клинические результаты, можно предположить, что разработка и внедрение новых методов нейропротективной терапии, направленных на уменьшение выраженности локальной воспалительной реакции путем снижения числа циркулирующих в крови лейкоцитов, блокады провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, иммуносупрессии, а также активации защитных противовоспалительных систем, по-

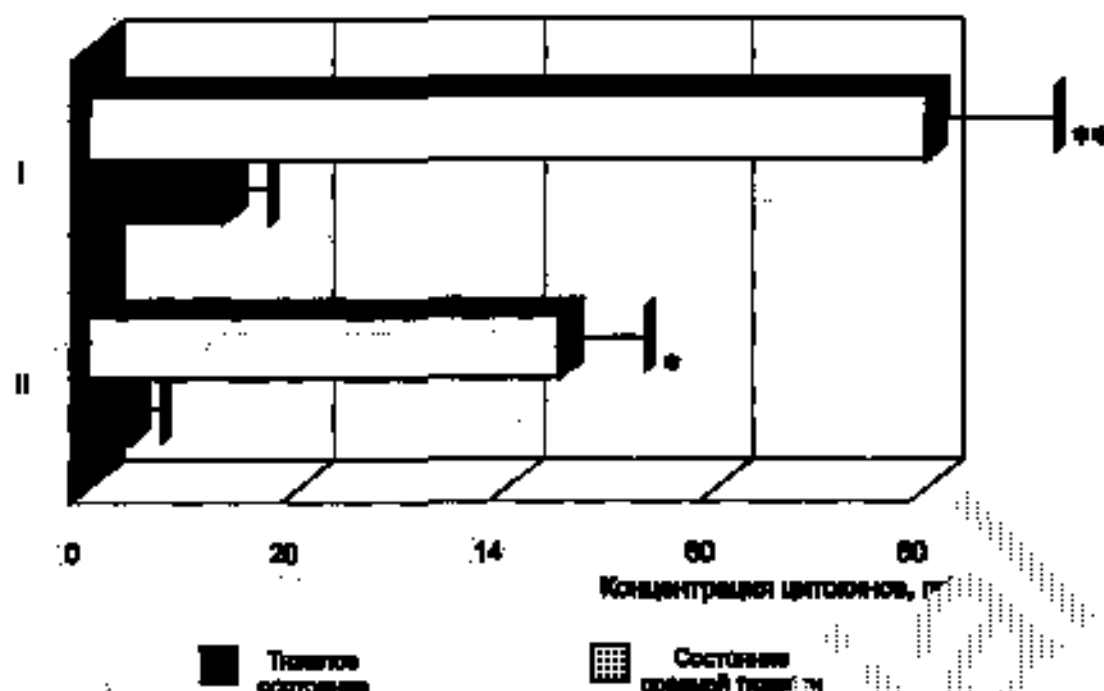


Рис. 8.9. Динамика содержания противовоспалительных цитокинов в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом в зависимости от тяжести заболевания.

I — TGF-β1; II — IL-10. Достоверность различий с группой здоровых: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

зводят значительно повысить эффективность лечения больных с острым ишемическим инсультом: улучшить клинический исход заболевания и ограничить область инфаркта и изменений мозга.

8.2. Микроциркуляторно-клеточный каскад

Исследования A.L. Шеп с соавт. [146] показали, что длительная артериальная гипертензия может вызывать активацию молекул межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) на эндотелиальных клетках и периваскулярное накопление лейкоцитов в ткани мозга, что отражает своеобразную предрасположенность к нарушению микроциркуляции у больных с хронической ишемической болезнью мозга гипертонического генеза.

Окклюзия мозговой артерии приводит к острому (в первые минуты) нарушению микроциркуляции в бассейне поврежденного сосуда, вызывая локальную ишемию церебральной ткани. Последующие процессы, происходящие в нейронах и глии: реакции глутамат-кальциевого каскада (особенно сопряженные с процессами оксидантного стресса, распадом фосфолипидов, избыточным синтезом эйкозаноидов и фактора активации тромбоцитов); метаболический ацидоз; вызванная активированной микроглияй лейкоцитарная реакция — вторично воздействуют на микроциркуляцию, усугубляя ее изменения даже в условиях ранней реперфузии и приводя к дополнительным нарушениям проницаемости гематоэнцефалического барьера. Экспериментальное изучение сочетанных микроциркуляторно-клеточных реакций в очаге ишемии позволило представить их в хронологической последовательности (микроциркуляторно-клеточный каскад; табл. 8.2) [155].

Таблица 8.2. Микроциркуляторно-клеточный каскад

I	Первые минуты	Реактивная гиперемия Постишемическая гипоперфузия Начало высвобождения медиаторов воспаления и проагрегантов
II	3—6 ч	Синдром «низкой перфузионной гиперемии» Венозная дилатация и дистонические нарушения микрососудов Феномен «пространственной и временной динамики микроциркуляции» Начало острой воспалительной реакции Начало миграции полиморфно-ядерных лейкоцитов в ткань мозга Вторичное усиление оксидантного стресса Реперфузионное повреждение мозга
III	6—72 ч	Активное формирование цитотоксических веществ Максимум активации микро- и макрофагов полиморфно-ядерных лейкоцитов Нарушение проницаемости ГЭБ Усугубление нарушений реологии крови
IV	3—7-е сутки	Необратимые гемореологические нарушения Синдром «роскошной перфузии» Миграция макрофагов в ткань мозга Астроглиальная пролиферация Окончание формирования инфаркта мозга
V	Недели, месяцы	Формирование очагов астроглияза в ткани мозга

В первые минуты после окклюзии мозговой артерии (I стадия микроциркуляторно-клеточного каскада) уровень мозгового кровотока снижается и нарушает тканевую микроциркуляцию. Со 2-й минуты после начала реперфузии развиваются реактивная гиперемия разной степени, сменяющаяся постишемической гипоперфузией. На этой стадии начинается высвобождение медиаторов воспаления, которое сопровождается повышенной агрегацией тромбоцитов, увеличением показателя соотношения уровней тромбосана A_2 и протаксина E_2 , что индуцирует дальнейшие нарушения микроциркуляции. Фактор агрегации тромбоцитов, являющийся провоспалительным медиатором, стимулирует лейкоциты и эндотелиальные клетки [103, 152].

В период 3—6 ч после развития ишемии (II стадия микроциркуляторно-клеточного каскада) объем мозгового кровотока несколько превышает доокклюзионный уровень («низкая перфузионная гиперемия»), что в основном связано с венозной дилатацией [90]. Характерны появления феномена «пространственной и временной динамики микроциркуляции» в ишемизированной области мозга, а также развитие дистонических нарушений, проявляющихся чередованием суженных и расширенных отделов одного и того же микрососуда, что приводит к частичной потере его целостности и несоответствию уровня кровотока метаболизму мозга (синдром «нишей перфузии»). Параллельно нарастает синтез провоспалительных медиаторов. Фактор агрегации тромбоцитов усиливает адгезию полиморфно-ядерных лейкоцитов к эндотелию сосудов [32, 154]. В результате возникают поврежде-

ния эндотелия (разрыв, сморщивание и коагуляционный некроз) [182]. После активации воспалительными медиаторами эндотелиальные клетки быстро вырабатывают адгезивные молекулы (например, *P*-селектин — *GMP-140*), которые накапливаются и вызывают дополнительное высвобождение ИЛ-1, ФНО- α и фактора активации тромбоцитов. Полиморфно-ядерные лейкоциты в циркулирующей крови также активируются адгезивными молекулами (*Sialyl-Lewis X*, *Lewis X* и *CD11/18*), расположенными на их поверхности. Под влиянием ИЛ-8 и других хемоаттрактантов лейкоциты притягиваются к ишемизированной зоне, скапливаются в ней вокруг микрососудов (преимущественно венул), на эндотелиальных клетках. Адгезия лейкоцитов к эндотелию опосредуется связывающими адгезивными молекулами (*CD11/18* и *ICAM-1*) и может «запускать» активную систему генерирования свободных радикалов в эндотелиальных клетках (например, ксантиноксидазную), способную разрушить все перечисленные клеточные элементы [122, 150]. Высвобождаясь из нейтрофилов, моноцитов и эндотелиальных клеток, воспалительные медиаторы (ИЛ-1, ФНО- α , фактор активации тромбоцитов) продолжают разрушительные процессы. Под действием ФНО- α эндотелиальные клетки приобретают гемостатически прокоагулянтные свойства [124].

Лейкоциты играют важную роль в реперфузионном повреждении мозга [73]. Поступая с кровью в ткань, они повышают уровень токсичных интермедиаторов O_2 , гранулярного содержимого лейкоцитов и фосфолипидных продуктов.

На III стадии микроциркуляторно-клеточного каскада (6—72 ч после развития ишемии) активно формируется цитотоксический отек. Глиальные клетки накапливают межклеточную жидкость и начинают набухать за счет внутриклеточного повышения осмотического давления (более 200 мм рт. ст.), вызванного мембранным повреждением. Они увеличиваются в объеме, тесня близлежащие структуры и сдавливая микроциркуляторное русло. При этом набухание нейронов значительно менее выражено [155].

Продолжается миграция лейкоцитов в ишемизированную ткань мозга. Максимум миграции лейкоцитов наблюдается спустя 24—72 ч после ишемии, уменьшается лейкоцитарная инвазия к 7-му дню.

Грубые нарушения целостности гематоэнцефалического барьера развиваются с задержкой в несколько часов после окклюзии. Адгезированные к эндотелию лейкоциты медленно проникают через эндотелиальную стенку. Вместе с тем имеются данные [44], что нейтрофилы могут проникать через гематоэнцефалический барьер по трансэндотелиальному пути, не нарушая его. Проникновение полиморфно-ядерных лейкоцитов через основную мембрану происходит с помощью протеолитических ферментов.

Рост проницаемости в артериальной части и угнетение абсорбции в венозной части микроциркуляторного русла усиливает задержку жидкости в ткани. Наблюдаются расширение расстояния между капиллярами, сдавление сосудов, локальные плазморрагии, эритроцитарные экстравазаты, значительная агрегация эритроцитов.

Характерно резкое повышение продукции лейкоцитами и эндотелиальными клетками множества токсичных соединений. Отмечается усиленный синтез лейкотриенов, тромбоксана, простаглицлина, простагландина E_2 , вазоконстрикторов, которые индуцируют дальнейшие цепи реакций [49]. Увеличение уровня супероксид-радикала приводит к активации ПОЛ, вторичному повреждению эндотелия с нарушением его функции. Фактор активации тромбоцитов постоянно выводится поврежденной мозговой

тканью вместе с эйкозаноидами за счет усиленных процессов ПОЛ. Под влиянием лейкотриена B_4 , обладающего провоспалительными эффектами, происходят скопление, адгезия и хемотактическое движение нейтрофилов, усиление их агрегации, дополнительная выработка супероксид-радикала [138].

Умиравшие нейроны и дегенерирующие аксоны высвобождают ИЛ-1, который стимулирует микроглиальные клетки, приводя их в активную форму [154]. В ответ на это они усиливают синтез других провоспалительных цитокинов и других регуляторов, включая фактор роста астроцитов, который стимулирует пролиферацию глии [41]. Нарастает двигательная активность астроцитов [71].

В последующие дни (3—7-е сутки; IV стадия микроциркуляторно-клеточного каскада) уровень тканевой ишемии нарастает, на что указывает значительное снижение объема крови в мозге. Гемореологические нарушения достигают необратимого уровня за счет накопления эритроцитарных агрегатов, агрегации тромбоцитов, плазморрагий, повышения вязкости крови, превращения поверхности эндотелиальных клеток в негладкую прокоагулянтную поверхность с адгезией тромбоцитов и лейкоцитов к сосудистой стенке. Неоднородная облитерация терминального русла в ложе благоприятствует развитию артериовенозного шунтирования и, при высоком давлении (синдромы «красной вены» и «розовой» «розовой» «розовой»). Наблюдаются гетерогенный сегментарный стаз и снижение кровотока через питающие капилляры. Эти изменения прогрессируют до момента формирования хорошо очерченного ишемического некроза [154].

На этой стадии макрофаги (моноциты и микроглиальные клетки) мигрируют с периферии ишемизированной зоны в ишемическое «ядро». Спустя несколько дней после инсульта активированные моноциты достигают пика секреторной активности и высвобождают сиротоксины [64]. Возбужденная микроглия продуцирует различные провоспалительные факторы, что обуславливает астроцитоз и нейронную дегенерацию.

Замедление фагоцитарной активности микроглии — важный благоприятный признак, свидетельствующий о близком завершении патологических процессов [64].

На протяжении последующих недель и месяцев (V стадия микроциркуляторно-клеточного каскада) все выше перечисленные аномальные изменения завершаются формированием стойкого морфологического дефекта ткани мозга с отсутствием кровотока в поврежденной области. Ткань размягчается, разжижается, продукты распада удаляются макрофагами, ишемический инфаркт становится кистой. Проплиферация фибробластов и последующий фиброз все же имеют место при инфаркте редко. В очагах с новыми капиллярами превалирует астроглиоз [154].

Таким образом, систематизация микроциркуляторных и клеточных реакций, развивающихся на фоне острой фокальной ишемии, позволяет еще раз подчеркнуть, что нарушения микроциркуляции отражают все основные события, происходящие в ткани мозга. Очевидно, что микроциркуляторные и клеточные процессы являются компонентами единой тканевой системы, настолько взаимосвязанными и тесно связанными друг с другом, что невозможно рассматривать их в причинно-следственном взаимоотношении.

В нормальных условиях состояние микроциркуляции определяется потребностями тканевого метаболизма. Однако при ишемическом инсульте такая согласованность нарушается и микроциркуляторные изменения начинают участвовать в ишемических каскадных реакциях. Хронологическое

«развертывание» микрососудистых нарушений охватывает дни и недели после развития инсульта и сопровождается продолжающейся перестройкой метаболизма и морфологии ишемизированной области мозга.

Открытие общих биохимических регуляторов, модулирующих и микроциркуляторные, и клеточные процессы, подтверждает существование единого триггерного молекулярного механизма, ответственного за универсальный ответ ткани мозга на повреждающее воздействие.

Литература

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Карта обследования и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990; 1—44.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Коваленко А.В., Соколов М.А. Журн неврол и психиатр 1999; 2: 71—76.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Насонов Е.Л. и др. Сосудистые заболевания головного мозга (Одинак М.М., Кузнецова А.Н. ред.). — СПб, 1998; 187—188.
4. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Комиссарова И.А. и др. Журн неврол и психиатр 1999; 2: 18—26.
5. Журавлева Е.Ю. Роль пептидергических нейротрансмиттерных систем в патогенезе и нейропротективной терапии острого ишемического инсульта (клинико-биохимическое исследование): Дисс. канд мед наук. — М., 1999; 190.
6. Скворцова В.И., Рязовский К.С., Коваленко А.В. и др. Журн неврол и психиатр 1999; 2: 34—39.
7. Скворцова В.И., Насонов У.Л., Журавлева Е.Ю. и др. Журн неврол и психиатр 1999; 5: 27—32.
8. Насонов Е.Л. Клиника и иммунопатология ревматических болезней. — М. 1994.
9. Насонов Е.Л., Цветкова Е.С. и др. Терапевт журн; 5: 1—14.
10. Фадеев М.А. Нейрохимия (Ашмарин И.П., Ситников П.В. ред.). — М. 1996; 193—200.
11. Akira S., Togo T., Kishimoto T. Adv Immunol 1993; 54: 1—78.
12. Akopov S.E., Simonian N.A., et al. Stroke 1996; 27: 1739—1743.
13. Arvin B., Neville L.F., Barone C., Jernstern G.Z. Neurosci Biobehav Rev 1996; 20 (3): 445—452.
14. Arzt E., Staffa G.K. Neuroimmunomodulation 1996; 3: 28—34.
15. Arzt E., Buric R., Stelzen et al. Endocrinology 1993; 132: 459—467.
16. Arzt E., Sauer J., Buric R. et al. Endocrine 1995; 3: 113—119.
17. Astrup J., Siesjo B. Syn. L. Stroke 1981; 12: 723—725.
18. Banati R.B., Graeber M.B. Dev Neurosci 1994; 16: 114—127.
19. Banati R.B., Gehrman J., Kreutzberg G.W. In: Cellular and molecular mechanisms of ischemic brain damage (Siesjo K., Wieloch T. eds.). 1996; 329—337.
20. Banati R.B., Gehrman S., Schubert P., Kreutzberg G. W. Glia 1993; 7: 111—118.
21. Baron J. C., von Sumner R., del Zoppo G.J. Stroke 1995; 26: 2219—2221.
22. Beamer H., Hall B.M., Clark W.M. et al. Ann Neurol 1995; 37: 800—805.
23. Beamer H.B., Sexton G., Wym M. et al. Neurology 1998; 50 (6): 1722—1728.
24. Benveniste E.N. Am J Physiol 1992 263: 1—16.
25. Bishayi B., Samanta A.K. Scand J Immunol 1996; 43 (5): 531—536.
26. Blasi E., Badnai R., Bocchini V. et al. J Neuroimmunol 1990; 27: 229—237.
27. Blinzinger K., Kreutzberg G. Z Zellforsch Mikrosk Anat 1968; 85: 145—157.
28. Brenneman D.E., Schultzberg M., Bartfal T., Oozes I. J Neurochem 1992; 58: 454—460.
29. Brosnan C.F., Cannella B., Barstini L., Ratne C.S. Neurology 1995; 45 (6): 16—21.
30. Bruce A.J., Baling W., Kindy M.S. et al. Nat Med 1996; 2: 788—794.
31. Bruce-Keller A.J., Goddes J.W., Knapp P.E. et al. J. Neuroimmunol 1999 in press.
32. Bussolino F., Alessi D., Turello E., et al. In: New aspects of human polymorphonuclear leukocytes (Hori W.H., Schollmeyer P.J. eds.). New York, Plenum 1991; 55—64.

33. Buttini M., Souler A., Boddie H.W. *Mol Brain Res* 1994; 23: 126—134.
34. Camella B., Raine C.S. *Ann Neurol* 1995; 37: 424—435.
35. Chen C.C., Manning A.M. *Cytokine* 1996; 8 (1): 58—65.
36. Chen S. C., Soares H. D., Morgan J. J. *Adv Neurol* 1996; 71: 433—450.
37. Chuagui R., Tapia J. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 481—489.
38. Clark R.S., Kochanek P.M., Schwan M.A. *et al. Pediatr Res* 1996; 39 (5):784—791.
39. Cornell-Bell A.H., Kinkbeiner S.M. *Cell Calcium* 1991; 12: 185—204.
40. Corradin S.B. *et al. Eur J Immunol* 1993; 23 (8): 2045—2048.
41. Davis E.J., Foster T.D., Thomas W.E. *Brain Res Bull* 1994; 34 (1): 73—78.
42. Dinarello C.A. *Blood* 1991; 77: 1627—1652.
43. Ding A., Nathan C.F., Graycar J. *et al. J Immunol* 1990; 145: 940—944.
44. Dorovini-Zis K., Bowman P.D. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 194—205.
45. Dunn A.J. Abstracts of the international symposium Physiological and biochemical basis of brain activity (June 2224). St-Peterburg 1994; 48.
46. Efstratiopoulos A., Tsiadra P., Vajakti S. *et al. Cerebrovasc Dis* 1996; 6: 52.
47. Ellerby L.M., Ellerby H.M., Park S.M. *et al. J Neurochem* 1996; 67: 1259—1267.
48. Ethelbaum A.M., Falke P., Axelsson L. *et al. Stroke* 1996; 27: 1734—1739.
49. Ernst E., Matrai A., Paulsen F. *Stroke* 1987; 18: 59—62.
50. Fassbender K., Raschl S., Kammer T. *et al. J Neurol Sci* 1994; 122: 111—115.
51. Feuerstein G.Z., Liu T., Barone F.C. *Brain Metab Rev* 1994; 6: 31—36.
52. Feuerstein G.Z., Liu T., Barone F.C. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1994; 6: 341—360.
53. Fisher M. *Stroke* 1997; 8: 866—872.
54. Fisher M., Takano K. *Ballier's clinical neurology, cerebral vascular disease* (Hachinski V. ed.), London 1995; 279—296.
55. Fisher M., Garcia J.H. *Neurology* 1996; 47: 884—889.
56. Foster S.J., Aked D.M., Schroder J.-M., Christopherson E. *Immunology* 1989; 67: 181—183.
57. Furie M.B., Randolph G.J. *Am J Pathol* 1995; 146: 1287—1301.
58. Garcia J., Martinou J., Tajimoto Y., Lippman J. *Science* 1992; 258: 302—304.
59. Garcia J.H., Liu K.F., Fisher M., Taffet S. *Cerebrovasc Diseases* 1996; 6: 180.
60. Garcia J.H., Liu K.F., Yoshida Y. *et al. Am J Pathol* 1994; 140: 721—740.
61. Giulian D. *Glia* 1993; 7 (1): 141—146.
62. Giulian D., Robertson C. *Am Neurol* 1990; 27: 33—42.
63. Giulian D., Corpus M. *Adv Neurol* 1993; 53: 315—320.
64. Giulian D., Vaca K. *Stroke* 1993; 24: 184—190.
65. Giulian D., Li J., Leira P., Greene C. *Neurochem Int* 1994; 25: 227—233.
66. Graeber M.D., Streit W. *Brain Pathol* 1990; 1: 2—5.
67. Grau A.J., Hacke W., Warneke E. *et al. Thromb Res* 1996; 82 (3): 245—255.
68. Gross C.E., Bedthe M., Howard D.B., Sporn M.B. *Stroke* 1993; 24: 558—562.
69. Gurvitz B.Y., Galvan A. Abstracts of the international symposium «Physiological and biochemical basis of brain activity». St-Peterburg 1994; 53.
70. Gusev A., Skvortsov V., Raevsky K. *et al. Aktuelle Neurologie* 1998; 3: 25.
71. Haapalahti H., Tamita M., Tanahashi N. *et al. Neurosci Lett* 1995; 193: 121—124.
72. Hallenbeck J.M. in: *Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma*. New York 1996; 27—31.
73. Hallenbeck J.M., Dutka A.J. *Arch Neurol* 1990; 47: 1245—1254.
74. Haverkate F., Thompson S.G., Pyke S.D.M. *et al. Lancet* 1997; 73: 374—378.
75. Heiss W. D., Graf R. *Curr Opin Neurobiol* 1994; 1: 11—19.
76. Heiss W. D., Fink G.R., Pietnyk V. *et al. Pharmacology of cerebral ischemia* (Kriegstein J., Oberpichler-Schwenk H. eds.), Stuttgart 1992; 529—536.
77. Henric-Noack P., Prohn J.H.M., Kreigstein J. *Stroke* 1996; 27: 1609—1615.
78. Hutter E., Ayala J., Denegre P. *et al. J Neurosci Res* 1988; 21: 391—397.
79. Hirano T. *Chem Immunol* 1992; 51: 153—180.
80. Hockenbery D.M., Oltvai Z.N., Xiaoming Y. *et al. Cell* 1993; 75: 241—251.
81. Howard M.C., Miyajima A., Coffmann R. *Fundamental Immunology* (We P. ed.), New York 1993; 763—800.
82. Huber M., Heiss W.D. *Semin Thromb Hemost* 1996; 22 (1): 53—60.

83. Isayama K., Piliz L.H., Nishimura M.C. *Stroke* 1991; 22: 1394—1398.
84. Issawdeh S., Lorentien J.C., Mustafa M.I. et al. *J Neuroimmunol* 1996; 69 (12): 103—115.
85. Jones A., Selby P. *Prog Growth Factor Res* 1989; 1: 2: 107—122.
86. Kane D.J., Ord T., Anton R., et al. *J Neurosci* 1995; 40: 269—275.
87. Kanoh Y., Ohtani H. *Biochem Mol Biol Int* 1997; 43 (2): 269—278.
88. Kees L., Reinhard H. *Neurology* 1995; 45 (6): 4—5.
89. Kim J.S. *J Neurol Sci* 1996; 137 (2): 69—78.
90. Kobari M., Gotok F., Tamita M. et al. In: *The cerebral veins* (Auer L.M., Loew F. eds.). New York, Wien, Springer 1983; 287—291.
91. Kochanek P.M., Hallenbeck J.M. *Stroke* 1992; 23: 1367—1379.
92. Koedel U., Bernatowicz A., Frei K. et al. *J Immunol* 1996; 157 (11): 5185—5191.
93. Kogure K., Arai H., Abe K., Nakano M. *Prog Brain Res* 1985; 63: 237—259.
94. Kogure K., Yamazaki Y., Matsuura Y. et al. *Acta Neurochir* 1996; 66: 40—43.
95. Kornelisse R.F., Savelkoul H.F., Mulder P.H. et al. *J Infect Dis* 1996; 173 (6): 1498—1502.
96. Kassmann T., Morganti-Kassmann C., Trent O. et al. *Shock* 1995; 4 (5): 311—317.
97. Kassmann T., Stahl P.F. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17 (3): 281—289.
98. Kreutzberg G.W. *Trends Neurosci* 1996; 19 (8): 312—318.
99. Krupinski J., Kumar P., Kumar S. et al. *Stroke* 1996; 27: 852—857.
100. Lee M.R., Sakatani K., Young W. *Exp Neurol* 1993; 119: 40—55.
101. Libby P., Sukhova G., Lee R.T., Galla Z.S. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 (2): 9—12.
102. Lindholm D., Castren E., Kleger R. et al. *J Cell Biol* 1992; 117: 395—400.
103. Lindsberg P.J., Hallenbeck J.M., Feuerstein G. *Ann Neurol* 1991; 30: 117—129.
104. Liu T., Clerk R.K., McDermott P.C. et al. *Stroke* 1994; 25: 1481—1488.
105. Luzzo G., Biasucci L.M., Gallimore J. et al. *N Engl J Med* 1994; 331: 417—424.
106. Marchetti B., Gallo F., Romeo C. et al. *J Am Nephrol Assoc* 1996; 784: 209—236.
107. Marino M.W., Dunn A. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8093—8098.
108. Matsumoto K., Graf R. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 586—594.
109. Matsumoto M., Yamamoto K., Taminger H. et al. *Mayo Clinic Proc* 1987; 62: 460—472.
110. Matsumoto K., Yamada K., Kikuchi T. et al. *Neurol Res* 1994; 16 (6): 460—464.
111. Mattila K.J., Aikainen S., Nieminen S., Valtanen V.V. *Clin Infect Dis* 1998; 26 (93): 719—734.
112. McGee P.L., Hagaki S., Iwamoto T., McGee E.G. *Neurosci Lett* 1987; 9: 195—200.
113. McGee P.L., Kawamata T., Walker D.G. et al. *Glia* 1993; 7: 84—92.
114. McIntosh T.K., Smith H., Garde E. *Eur J Anaesthesiol* 1996; 13 (3): 291—309.
115. Michaels R.L., Roman J.M. *Neurosci* 1990; 10: 283—292.
116. Mihajlovic T., Jovanovic M., Djordjevic D., Jovicki A. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6 (2): 13.
117. Minami A., Kuratsune Y., Tabuchi K. et al. *Acta Neuropathol (Berl)* 1992; 58: 390—392.
118. Mishra V.P., Das K., Chandra L. et al. *Indian Pediatr* 1995; 32 (8): 886—889.
119. Morioka T., Kalish A.N., Streif W.J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 10: 850—859.
120. Morioka T., Kalish A.N., Streif W.J. *J Comp Neurol* 1993; 327: 123—132.
121. Muir K.W., Weir C.J., Alwan W. et al. *Stroke* 1999; 30 (5): 981—985.
122. Murata S., Fujita H., Morita I. Involvement of adhesion molecules in vascular endothelial cell injury by oxygen radicals released from activated leukocytes. In: *Intractable vasculitis syndromes* (Tanabe T. ed.). Hokkaido University Press 1993; 115—122.
123. Nakajima Y., Mori A., Maeda T., Fujimura M. *Brain Res* 1997; 765: 113—121.
124. Nawroth P.P., Stem D.M. *Exp Med J* 1986; 163: 740—745.
125. Nordan R., Potter M. *Science* 1986; 233: 4763: 566—569.
126. Orgogozo J.M., Dartigues J.F. *Acute Brain Ischemia. Medical and Surgical Therapy*. New York, Raven Press 1986; 282—289.
127. Pantoni L., Sarti K., Inyart D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 503—513.
128. Paradowski M., Kubasiewicz Ujma B. et al. *Clin Biochem* 1995; 28 (4): 439—466.

129. *Petito C.K., Morgello S., Felix J., Lesser M.L.* J Cereb Blood Flow Metab 1990; 10: 850-859.
130. *Plant D., Frei K., Pfister H. W., Fontana A.* J Neuroimmunol 1993; 48: 99-104.
131. *Prehn J.H.M., Bindakas V.P., Marcuccilli C.J. et al.* Proc Nat Acad Sci USA 1994; 91: 12599-12603.
132. *Pulsneff W.A.* Am Sci Med 1995; 2: 16-25.
133. *Quan J.M., Martin T.R. et al.* Biochem Biophys Res Commun 1996; 219 (2): 405-411.
134. *Ransohoff P.M., Glabinski A., Tani M.* Cytokine Growth Factor Rev 1996; 7 (1): 35-46.
135. *Ridker P.M., Hennekens C.H., Tracy P.P. et al.* Circulation 1998; 97 (5): 425-428.
136. *Rinner W.A., Bauer J., Schmidt M. et al.* Glia 1995; 14 (4): 257-266.
137. *Saito K., Suyama K., Nishida K. et al.* Neurosci Lett 1996; 206 (2-3): 149-152.
138. *Samuelsson B.* Science 1983; 220: 568-575.
139. *Scandinavian Stroke Study Group* Stroke 1985; 16: 885-890.
140. *Schröder J.M., Sticherling M., Henneicke H.H. et al.* J Immunol 1990; 144: 2223-2232.
141. *Schwanzel-Fukuda M., Abraham S., Crossin K.L. et al.* J Comp Neurol 1992; 321: 1-7.
142. *Shull M.M., Ormsby Y., Kier A.* Nature 1992; 359: 693-699.
143. *Siejo B.K.* J Cereb Blood Flow Metab 1981; 1: 155-183.
144. *Siejo B.K., Bengtsson F.* J Cerebral Blood Flow Metab 1981; 9: 1579-1590.
145. *Singh N., Kahlon P.S., Arora S.* Indian Pediatr 1995; 32 (6): 677-688.
146. *Siren A.-L., McCarron R.M., Liu Y. et al.* In: Microcirculatory stasis in the brain (Tomita M., Mchedlishvili G., Rosenblum W.J., Helms W. D., Fukunishi Y. eds.). Amsterdam, Excerpta Medica 1993; 169-175.
147. *Smith W.B., Noack L., Khew-Goodall Y. et al.* J Immunol 1996; 157 (1): 360-368.
148. *Sornas R., Ostlund H., Müller R.* Arch Neurol 1972; 26: 489-501.
149. *Steel D.M., Alexander A.S.* Immunol Today 1994; 15: 80-87.
150. *Suamatsu M., Schmid-Schönbein G., Cifuentes R.H. et al.* Am J Physiol 1993; 264: 881-891.
151. *Symon L., Branston N.M., Strong A.J. et al.* J Clin Pathol 1977; 30: 149-154.
152. *Tanahashi N., Fukunishi Y., Tomita M. et al.* In: Microcirculatory stasis in the brain (Tomita M., Mchedlishvili G., Rosenblum W.J., Helms W. D., Fukunishi Y. eds.). Amsterdam, ICS 1031, Excerpta Medica 1993; 203-210.
153. *Tarkowski E., Rosengren S., Strandberg C. et al.* Materials of European stroke conference (June 13). Cerebrovasc Dis 1995; 5-4: 240-293.
154. *Tomita M., Fukunishi Y.* Acta Neurochir 1996; 66: 32-39.
155. *Tomita M., Fukunishi Y., Terakawa S.* Acta Neurochir (Wien) 1994; 1 (60): 31-33.
156. *Tomita F., Fukunishi Y., Tanahashi N. et al.* J Cardiovasc Pharmacol 1995; 25 (2): 34-39.
157. *Torjani U., Yoon A., Derlon J.M. et al.* Stroke 1995; 26: 2112-2119.
158. *Tsawara S., Sporn M., Ding A., Nathan C.* Nature 1988; 334: 260-262.
159. *Uehara A., Goto S., Arimura A.* Neuroendocrinology 1987; 45: 343-347.
160. *Wan S.M.* J Clin Immunol 1992; 12: 61-74.
161. *Wang X., Yue T.L., Barone F.C. et al.* Mol Chem Neuropathol 1994; 23 (23): 14-103.
162. *Wang X., Yue T.L., Barone F.C., Feuerstein G.Z.* Stroke 1995; 15: 661-666.
163. *Wang X., Yue T.L., Ohlstein E.H. et al.* J Biol Chem 1996; 271: 24286-24293.
164. *Warach S., Gaa J., Siewert B. et al.* Ann Neurol 1995; 37: 231-241.
165. *Wetssner C., Gehrmann J., Lindholm D. et al.* Acta Neuropathol Berol 1993; 86: 439-446.
166. *Wiesner C., Vogel P., Neumann-Haefelin T., Hossmann K.A.* In: Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma. New York 1996; 1-7.
167. *Welch K.M.A., Windham J., Knight R.A. et al.* Stroke 1995; 26: 1983-1989.
168. *Wells T.H., Power C.A., Lusti Narasimhan M. et al.* J Leukoc Biol 1996; 59 (1): 53-60.
169. *Wetsel W.C., Eruly S.A., Whyte D.B. et al.* Endocrinology 1993; 132: 2360-2370.

170. Williams K., Dooley N., Ulvestad E. et al. *Neurochem Int* 1996; 29 (1): 55—64.
171. Winsfree A. *SFI Studies in the Sciences of Complexity*. Reading, MA: Addison—Wesley 1993; 207—298.
172. Winkiewski H.M., Wegiel J., Wang K.C. et al. *Can J Neurol Sci* 1989; 16: 535—542.
173. Wang M. L. In: *Neuroscience, Neurology and Health*. Geneva, WHO 1997; 81—104.
174. Wang M. L., Bongiorno P.B., Rettori V. *Exp Med J* 1997; 163: 740—745.
175. Wood P. *Life Sci* 1994; 55 (9): 666—668.
176. Wood P., Kreutdler G.W. *Trends Neurosci* 1996; 19 (8): 312—318.
177. Wood P., Chakata S., Bocchini V. *Neurol Report* 1994; 5 (8): 977—980.
178. Yamazaki Y., Yamaya H., Watanabe M. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 13 (1): 113.
179. Yamazaki Y., Suzuki T., Yamaya H. et al. *Neurosci Lett* 1992; 142: 45—47.
180. Yamazaki Y., Matsui Y., Matsura N. et al. *Stroke* 1995; 26: 318—323.
181. Yanagimoto S., Kinugawa H., Oz H. et al. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6: 121.
182. Yokoyama M., Fukuuchi Y., Tomita M. et al. In: *Microcirculation, Annual 1994* (Tsuchiya M., Asano M., Ohhashi T. eds.). Tokyo, Nihon—Igakukan 1994; 165—166.

Глава 9

Участие аутоиммунных реакций в формировании трофической дисфункции и повреждении ткани мозга при церебральной ишемии

Нервная, иммунная и эндокринная системы выполняют совместную функцию сохранения динамического гомеостаза в организме. Являясь компонентами единой системы, они взаимодействуют по принципу взаимной регуляции, осуществляемой нейромедиаторами, нейротрофическими факторами, цитокинами, трофическими факторами, гормонами через соответствующий рецепторный аппарат [32]. Взаиморегуляция нервной, эндокринной и иммунной систем определяет надежность их совместной деятельности. В то же время она создает риск развития функциональных расстройств общей системы при первичном нарушении какой-либо из подсистем. Такого рода расстройства можно определить как дисрегуляторную патологию, патогенез которой может быть связан с первичными нервными, эндокринными и/или иммунными механизмами [20].

Если бы события, вызванные активацией фагоцитирующей микроглией, произошли в периферических тканях, то сформировавшаяся в мозге область локального воспаления со временем заместила бы живую ткань за счет пролиферации чужеродных клеток. Воспаление в периферических тканях — это по сути процесс заживления. Вместе с тем результатом воспалительного процесса в ткани мозга является кистозобразование или глиоз, что, по-видимому, связано с отсутствием у нейронов способности к делению. Известно, что у организма отсутствует иммунологическая толерантность к мозговой ткани, которую гематоэнцефалический барьер защищает от иммунной реакции. Иммунная «чужеродность» и неординарные реакции церебральной ткани на повреждение по сравнению с хорошо развитыми механизмами защиты других тканей организма позволяют, по мнению Y. Y. Shizaki и K. Kodice с соавт. [65, 89—91], рассматривать мозг как «пришельца» в эволюционно устоявшуюся биологическую систему. Он может быть распознан системой защиты как чужеродный, стоит только повредиться гематоэнцефалическому барьеру за счет разрушения эндотелия и астроцитарной дисфункции.

Изменения гематоэнцефалического барьера присутствуют с первых минут острой фокальной ишемии, однако наиболее выраженными они становятся через несколько часов после инсульта вследствие деятельности сложного каскада микроциркуляторно-клеточных реакций. Возникновение неадекватной проницаемости барьера способствует проникновению нейроспецифических белков в кровь. Утрата иммунной толерантности к белковым компонентам мозга влечет за собой аутоиммунную реакцию. По мне-

нию М.Б. Штарк [34], термины «нейроспецифические белки» и «нейроспецифические антигены» тождественны. Аутоантитела могут проникать в мозг через нарушенный гематоэнцефалический барьер и дополнительно нарушать нормальную жизнедеятельность клеток мозга.

Согласно теории «иммунологической сети», предложенной N. Jerne в 1973 г. и подтвержденной исследованиями последних десятилетий, иммунная система продуцирует антитела как к чужеродным, так и к собственным антигенам. Описано множество естественных аутоантител разной антигенной направленности. Было показано, что у здоровых людей имеется значительная популяция лимфоцитов (от 10 до 30 % всех В-клеток), несущих маркерный поверхностный антиген CD_5 , которые «специализируются» на продукции аутоантител. Таким образом, наличие естественных аутоантител в крови является нормальным физиологическим механизмом, однако в результате нарушений в механизмах регуляции их количество может резко нарастать и приводить к развитию патологического аутоиммунного процесса.

В крови молодых здоровых людей свободно циркулируют антитела к нейроантигенам выявляются сравнительно редко, что объясняется за барьерной локализацией мозга, предотвращающей возможность контакта нейроантигенов с иммунокомпетентными клетками, образованием антител. Частота выявления свободно циркулирующих антител к антигенам мозга увеличивается с возрастом, отражая появление «хронических» деструктивных процессов гематоэнцефалического барьера и ткани мозга [14, 18, 32]. Длительное сохранение антител к нейроантигенам в крови свидетельствует о прогрессивном развитии деструктивных изменений [31, 84]. Проникающие в ткань мозга антитела распространяются в межклеточном пространстве и далее транспортируются асимметричным током в различные клеточные структуры, инактивируя соответствующие нейроантигены, что в конечном итоге приводит к усилению повреждения нервной ткани. Аутоантитела оказывают влияние как на функциональность нервных клеток, так и на формирование специфических функций нервной системы в целом [16, 17, 23].

Таким образом происходит развитие аутоиммунной агрессии, с механизмами которой связан хроническое и прогрессивное течение патологического процесса в центральной нервной системе. Аутоиммунные реакции являются важным патогенетическим звеном энцефалопатий разной природы, психозов, рассеянного склероза, мозжечковых дегенераций и других заболеваний нервной системы [45, 47, 55]. При этом аутоантитела к нейроспецифическим белкам, так же как и сами нейроспецифические антигены, могут служить уникальными маркерами патологических состояний нервной ткани [22].

Вместе с тем необходимо подчеркнуть сложность получения адекватной информации при определении аутоиммунной реакции на мозговые антигены, так как процесс аутоиммунной реакции зависит не только от выхода антигенов в кровь или цереброспинальную жидкость, но и от иммуногенности и толерантности того или иного нейроспецифического белка, а также от состояния всей иммунной системы, определяющей иммунный статус организма [1].

Проведенное нами при остром ишемическом инсульте мониторирование титра аутоантител к фенилаланин-связывающему белку *NMDA* рецепторов позволило выявить его значительное и стабильное повышение в сыворотке крови уже в первые 3 ч после развития инсульта (см. раздел 4.1.3.). Такое быстрое антителообразование указывает на предшествующую сенсibilизацию ткани мозга к фрагментам *NMDA* рецепторов, т.е. на существо-

вание «фоновых» доинсультных повреждений нейрональных мембран и изменений гематоэнцефалического барьера. На основании этого был сделан вывод о развитии «предуготованности» ткани мозга к формированию инфаркта вследствие ее предшествующей хронической ишемизации с развитием энцефалопатических деструктивных процессов.

Наше предположение было подтверждено при клинко-иммунологическом исследовании 40 больных с хронической ишемической болезнью мозга (дисциркуляторной энцефалопатией), не имевших в анамнезе инсультов (в том числе «немых» по результатам МРТ головного мозга). Определение в сыворотке крови аутоантител к фенилглидин-связывающему мембранному белку *NMDA* рецепторов показало, что при среднем по группе показателе титра, близком к норме ($1,8 \pm 0,25$ нг/мл), более чем у 40 % больных выявлялось его повышение до 2,5—4,0 нг/мл. Детальный клинический анализ свидетельствовал о том, что все пациенты с повышенным титром аутоантител длительно страдали высокой артериальной гипертензией («рибочье» систолическое артериальное давление выше 180 мм рт.ст.) с повторными гипертоническими кризами. Учитывая влияние колебаний артериального давления на проницаемость гематоэнцефалического барьера, представляется закономерной связь между выявленными процессами аутоиммунизации к белковым компонентам нейрональных мембран и повреждающим действием прогрессивно развивающейся гипертонии.

Полученные нами клинические результаты согласовались с данными экспериментов, проведенных на животных с целью глобальной ишемии мозга [3], которые продемонстрировали влияние исходных изменений гематоэнцефалического барьера и сенсибилизации организма к структурным компонентам мозга на течение и особенности течения острой церебральной ишемии. И.В. Гангилунишвили было установлено, что у животных, сенсибилизированных экстрактом мозгового вещества, при сравнении с интактными животными почти в 3 раза увеличивалась частота возникновения нарушений мозгового кровообращения вследствие одного и того же воздействия на кровяное русло; уменьшалось кровенаполнение мозга с более частым возникновением редуцированного кровообращения; плохо восстанавливались первоначальные изменения ЭЭГ, вызванные глобальной ишемией; отмечены более выраженные клинические проявления ишемии. На территории мозга в условиях нарушенного кровообращения и циркуляции «пативомозговых» антител выявлена реакция антиген—антитело, требующая для ее реализации требовалось крайне незначительное количество ($1-5$ мкг).

9.1. Содержание фактора роста нервов и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом

Важную роль в развитии ишемического повреждения ткани мозга играет уровень его трофического обеспечения, который во многом определяет альтернативный выбор между генетическими программами апоптоза и антиапоптозной защиты, а также влияет на механизмы некротической смерти клеток и репаративные процессы [13, 41, 53, 69, 83, 87] (см. главы 10 и 12).

Нейротрофические свойства присущи многим протеинам, в том числе и структурным белкам (например, *S100β*). В то же время макомимально

их реализуют факторы роста, которые представляют разнородную группу трофических факторов, состоящую, по меньшей мере, из 7 семейств [67, 85]: нейротрофины, цитокины, фибробластные факторы роста, инсулин-зависимые факторы роста, семейство трансформирующего фактора роста β_1 (*TGF- β_1*), эпидермальные факторы роста и другие, в том числе ростовой протеин 6 (*GAP-6*), тромбоцит-зависимый фактор роста, гепарин-связанный нейротрофический фактор, эритропоэтин, микрофагальный колониестимулирующий фактор и др. (табл. 9.1).

Таблица 9.1. Современная классификация нейротрофических факторов

Нейротрофины	Фактор роста нервов (<i>NGF</i>)	Холинергические нейроны лобной доли, стриатум, чувствительные нейроны коры, симпатические нейроны
	Фактор роста, выделенный из головного мозга (<i>BDNF</i>)	Холинергические нейроны лобной доли, гипоталамус, нейроны коры головного мозга, система механорецепторов, мотонейроны, нейроны вестибулярных и слуховых ядер, нейроны ретикулярного ганглия
	Нейротрофин-3 (<i>NT-3</i>)	Холинергические нейроны лобной доли, гипоталамус, нейроны коры головного мозга, система проприорецепторов, мышечные веретена, нейроны слуховых ядер, клетки глии
	Нейротрофин-4/5 (<i>NT-4/5</i>)	α -Мотонейроны, нейроны ретикулярного ганглия, чувствительные нейроны коры
	Нейротрофин-6 (<i>NT-6</i>)	Не уточнено
	Нейротрофин-7 (<i>NT-7</i>)	Не уточнено
Цитокины	Цитокиновый нейротрофический фактор (<i>CNTF</i>)	Центральные и периферические мотонейроны, стриатум, парасимпатические нейроны, чувствительные нейроны коры, гипоталамус, холинергические нейроны коры лобной доли, клетки глии
	Гидратирующий лейкоин фактор (<i>LIF</i>) и фактор, вызывающий дифференцировку холинергических нейронов (<i>CDP</i>)	Центральные и периферические мотонейроны, клетки глии, нейроны коры головного мозга
Фибробластные	Кардиотрофин-1 (<i>Cardiotrophin-1</i>)	α -Мотонейроны
	Интерлейкины 1, 2, 3, 6 (<i>IL-1,2,3,6</i>)	Холинергические нейроны коры лобной доли
	Фибробластный фактор роста 1 (кислый) (<i>FGF-1, acidic FGF</i>)	Нейроны коры головного мозга, клетки ствола мозга, спинного мозга

	Фибробластный фактор роста 2 (основной) (<i>FGF-2, basic FGF</i>)	Холинергические нейроны коры лобной доли, дофаминергические нейроны, нейроны реснитчатого ганглия, клетки ствола мозга
	Фибробластные факторы роста 2-15 (<i>FGF, 2-15</i>)	Не уточнено
Инсулин-зависимые	Инсулин-зависимый фактор роста I (<i>IGF-I</i>)	α -Мотонейроны, чувствительные нейроны коры, клетки глии
	Инсулин-зависимый фактор роста II (<i>IGF-II</i>)	Чувствительные нейроны коры, симпатические нейроны
Трансформирующие факторы роста β	Трансформирующие факторы роста $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ (<i>TGF $\beta_1-\beta_3$</i>)	α -Мотонейроны, чувствительные нейроны коры
	Фактор роста, выделяемый из клеток глии (<i>GDNF</i>)	Дофаминергические нейроны, центральные и периферические мотонейроны, чувствительные нейроны коры
	Неуртин (<i>Neurturin</i>)	Дофаминергические нейроны, центральные и периферические мотонейроны, чувствительные нейроны коры
	Перзептин (<i>Perzerpin</i>)	Дофаминергические нейроны, центральные и периферические мотонейроны
	Активин (<i>Activin</i>)	β -Мотонейроны
	Костные морфогенетические белки (<i>BMP</i>)	Определение паттернов периферической и центральной нервной системы в период развития организма
Эпидермальные факторы роста	Эпидермальный фактор роста (<i>EGF</i>)	Дофаминергические нейроны, гипоталамус, нейроны коры мозга, нейроны ствола мозга
	Трансформирующий фактор роста α (<i>TGF-α</i>)	Дофаминергические нейроны, гипоталамус, нейроны коры мозга (<i>in vitro</i>)
	<i>Neuregulin</i>	Созревание глимальных клеток и синаптических окончаний
Другие	<i>N-4K</i>	Не уточнено
	Ростовой белок-6 (<i>CRP-6</i>)	Не уточнено
	Тучклет-зависимый фактор роста (<i>PDGF</i>)	Не уточнено
	Макрофагальный колониестимулирующий фактор (<i>MCSE</i>)	Не уточнено
	Эритропоэтин (<i>Erythropoietin</i>)	Холинергические нейроны коры лобной доли
	Гепарин-связанный нейротрофический фактор (<i>Heparin-binding NF</i>)	Не уточнено
	Гепатоцитарный фактор роста (<i>HGF</i>)	Гипоталамус, α -мотонейроны, чувствительные нейроны коры, клетки глии

Наиболее сильное трофическое влияние на все основные процессы жизнедеятельности нейронов оказывают нейротрофины — регуляторные белки нервной ткани, которые синтезируются в ее клетках (нейронах и глии). Они действуют локально в месте высвобождения и особенно интенсивно индуцируют ветвление дендритов (арборизацию) и рост аксонов (спрутинг) в направлении клеток-мишеней. Синаптический спрутинг, обеспечивающий «реусиление» существующих нейрональных токов [64] и образование новых полисинаптических связей [40, 61], обуславливает пластичность нейрональной ткани и формирует механизмы, участвующие в восстановлении нарушенных неврологических функций.

К настоящему времени наиболее изучены три нейротрофина, близких друг к другу по структуре: фактор роста нервов (*NGF*), фактор роста, выделенный из головного мозга (*BDNF*), и нейротрофин-3 (*NT-3*) [40]. В развивающемся организме они синтезируются клеткой-мишенью (например, мышечным веретеном), диффундируют по направлению к нейрону, связываются с молекулами рецепторов на его поверхности, что приводит к активному росту аксона. В результате аксон достигает клетки-мишени, устанавливая с ней синаптический контакт. Факторы роста перестают жить нейронами, которые в их отсутствие не могут существовать.

Трофическая дисрегуляция является одной из причин, способствующих патогенезу повреждения нервной системы [4, 43]. При лишении трофической поддержки зрелых клеток развивается биохимическая и функциональная дедифференциация нейронов с изменением свойств иннервируемых тканей [42, 48, 61, 64]. Трофическая дисрегуляция сказывается на состоянии макромолекул, принимающих участие в мембранном электрогенезе, активном ионном транспорте, синаптической передаче (ферменты синтеза медиаторов, постсинаптические рецепторы) и эффекторной функции (мышечный миозин). Ансамбли дифференцированных центральных нейронов создают очаги патологически усиленного возбуждения, «запускающего» патобиохимический каскад, который ведет к гибели нейронов по механизмам некроза и апоптоза [56, 57]. Напротив, при достаточном уровне трофического обеспечения процесс неврологического дефицита после ишемического повреждения мозга часто наблюдается даже при оставшемся морфологическом дефиците, изначально его вызвавшем [85], что свидетельствует о высокой приспособляемости мозговой функции.

Учитывая, что недостаток нейротрофинов способствует гибели клеток в области ишемической полумбры, большой интерес представляет изучение механизмов, приводящих к трофической дисфункции. Установлено, что в развитии недостаточности трофического обеспечения принимают участие изменения калиевого и кальциевого гомеостаза, избыточный синтез оксида азота, который блокирует фермент тирозинкиназу, входящий в активный центр трофических факторов, дисбаланс цитокинов. Одним из предполагаемых механизмов является аутоиммунная агрессия против собственных нейротрофинов и структурных нейроспецифических белков, обладающих трофическими свойствами, которая становится возможной в результате нарушения защитной функции гематоэнцефалического барьера при ишемическом повреждении [5].

С целью изучения роли аутоиммунных механизмов в развитии недостаточности трофического обеспечения мозга в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета совместно с Институтом молекулярной генетики РАН (Н.Ф.Мясоедов, И.А.Гривенников с сотр.) и Научным центром психического здоровья РАМН (Т.П.Клошник с сотр.) было проведено исследование содержания фактора

роста нервов и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с острым ишемическим инсультом [25, 27, 80].

Было исследовано 25 больных (15 мужчин и 10 женщин; средний возраст $66,2 \pm 4,1$ года) с острым ишемическим инсультом в системе внутренней сонной артерии (в 16 случаях — левой, в 9 — правой), поступивших в отделение интенсивной терапии в течение первых 12 ч заболевания. В исследование не включали больных с острыми воспалительными, наследственно-дегенеративными и аутоиммунными заболеваниями. Основными этиологическими факторами инсульта явились сочетание атеросклероза с артериальной гипертензией (21 больной, или 84 %), атеросклероз без артериальной гипертензии (3 больных, или 12 %), артериальная гипертензия у лиц молодого возраста (1 больной, или 4 %). У 96 % больных выявлялись признаки ишемической болезни сердца. У одного пациента инсульт развился на фоне острого инфаркта миокарда (кардиоцеребральный синдром), у 7 (28 %) — на фоне пароксизма мерцательной аритмии. В 17 (68 %) случаях инсульт имел атеротромботический характер, в 7 (28 %) — кардиоэмболический, в 1 (4 %) случае — гемодинамический. Микроциркуляторных (лакунарных) инсультов не было.

С момента поступления в клинику больные получали максимально унифицированную терапию, не включавшую неспецифические препараты.

Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологических нарушений, а также для стандартизации обработки клинического материала и проведения статистического анализа по группам применяли три взаимодополняющие клинические шкалы: Скандинавскую [77]; Ортогосо [74] и оригинальную [6]. В момент поступления у 12 больных состояние оценивали как среднетяжелое (суммарный клинический балл по шкалам — соответственно $32,3 \pm 1,82$; $52,1 \pm 2,1$; $3 \pm 0,48$), в клинической картине преобладали очаговые неврологические расстройства, которые в 41,7 % наблюдений сопровождали и неглубокой общемозговой симптоматикой. У 13 больных состояние при поступлении было тяжелым (суммарный клинический балл — соответственно $37,7 \pm 2,33$; $35,6 \pm 3,5$; $32,06 \pm 2,7$), отмечалась различная выраженность общемозговых симптомов, включая изменения сознания (до уровня сопора у 7 пациентов, сопора — у 4, комы I—II стадии — у 1).

Количественное определение фактора роста нервов (NGF) и уровня аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови проводили с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) дважды: в момент поступления больного в стационар (до начала лечения) и на 3-и сутки заболевания. Для исследования содержания NGF использовали коммерческие иммуноферментные наборы фирмы «Protegea» (США).

Для определения титра аутоантител к NGF активировали полистироловые планшеты, используя NGF в концентрации 5 мкг/мл в 0,01 M фосфатном буферном растворе с pH 7,2, содержащем 0,15 M Cl и 0,05 % раствор Твин-20. В каждую лунку планшета вносили по 100 мкл такого раствора и инкубировали 16–24 ч при 4 °C. Затем лунки планшета промывали несколько раз фосфатным буферным раствором (PBS) и вносили в лунки по 100 мкл испытуемой сыворотки (цереброспинальной жидкости) в разведении 1/20 в PBS, содержащем 0,15 M Cl, 0,5 % раствор желатина и 0,1 % раствор Твин-20, инкубировали 2 ч при 37 °C. Планшку вновь неоднократно промывали и вносили в лунки по 100 мкл антител против иммуноглобулинов человека, конъюгированных с пероксидазой хрена («Sigma», США). После инкубации в течение 2 ч и соответствующего промывания планшки проводили детекцию связаных антител внесением в лунки по 100 мкл субстратной смеси, содержащей

1,1 % раствор *o*-фенилендиамина и 0,006 % раствор H_2O_2 в 0,1 % цитратном буфере с *pH* 5,2. Реакцию останавливали внесением в лунки по 25 мкл 0,05 *M* серной кислоты. Оптическую плотность измеряли с помощью многоканального спектрофотометра.

В качестве нормативных использовали пробы cerebroспинальной жидкости 20 плановых ортопедических больных, у которых не было неврологических нарушений и воспалительных проявлений (контрольная группа); плазмы крови — 20 практически здоровых лиц сопоставимого возраста.

Статистическая обработка материала включала применение непараметрических (*F*-тест Фишера, *U*-тест Манна—Уитни, *r*-коэффициент ранговой корреляции Спирмена) методов. Различия между показателями признавалось существенным при 5 % уровне во всех проведенных сравнениях.

Исследование *NGF* в первые сутки инсульта выявило достоверное повышение его содержания в cerebroспинальной жидкости всех больных с состоянием средней тяжести — до 189 ± 81 нг/мл, что на 112 % превышало показатель у тяжелобольных ($p < 0,04$) и на 188,8 % — у контрольной группы ($p < 0,001$). К 3-м суткам уровень *NGF* умеренно нарастал (на 21 % по сравнению с 1-ми сутками, $p = 0,046$) и составлял 230 ± 74 нг/мл. В группе тяжелобольных при исходно (в 1-е сутки) более низком уровне *NGF* в cerebroспинальной жидкости (89 ± 39 нг/мл) к 3-м суткам состояние нейротрофина увеличивалось на 124 % ($199,4 \pm 61$ нг/мл, $p = 0,004$). Таким образом, в первые сутки инсульта уровень *NGF* в cerebroспинальной жидкости коррелировал с тяжестью состояния больных: чем ниже была концентрация *NGF*, тем ниже суммарный клинический балл и тяжелее состояние больного ($r = 0,42$).

Сопоставление содержания *NGF* в cerebroспинальной жидкости с размерами ишемического очага (по данным СРТ головного мозга) в 1-е сутки инсульта не выявило корреляции, однако была установлена достоверная обратная зависимость между размером сформированного к 5—7-м суткам инфаркта мозга и уровнем *NGF* в 1-е сутки ($r = -0,55$): низкому содержанию *NGF* соответствовал больший объем инфарктных изменений при сопоставимых локализациях и степени поражения и размерах ишемизированной зоны в 1-е сутки (рис. 9.1).

Ретроспективный анализ содержания *NGF* в cerebroспинальной жидкости в зависимости от клинического исхода инсульта и степени восстановления нарушенных неврологических функций к концу острого периода (на 21-е сутки) позволял выделить 3 группы пациентов. У всех больных с хорошим регрессом неврологических нарушений (индекс Бартела 75—100) содержание *NGF* в первые часы ишемии превышало 200 нг/мл и значимо не изменялось ($p = 0,10$) к 3-м суткам. При формировании тяжелой инвалидизации (индекс Бартела 0—45) исходный (в 1-е сутки) уровень *NGF* был ниже 150 нг/мл и значительно нарастал ($p = 0,05$) к 3-м суткам заболевания (рис. 9.2). Третью группу составили 2 больных с субтотальной ишемией полушария мозга, прогрессирующим развитием отека мозга и дислокационного синдрома, которые умерли в течение острого периода инсульта. У одного из них (смерть на 16-е сутки) показатель *NGF* был низким (84 нг/мл) при поступлении в стационар, но резко (на 397,6 %) нарастал к 3-м суткам — до самого высокого (418 нг/мл) в группе уровня. Столь значительное нарастание *NGF* за 10 дней до смерти, возможно, являлось последней отчаянной попыткой системы трофообеспечения скомпенсировать запущенные механизмы гибели клеток. У другого больного (смерть на 5-е сутки) как при по-

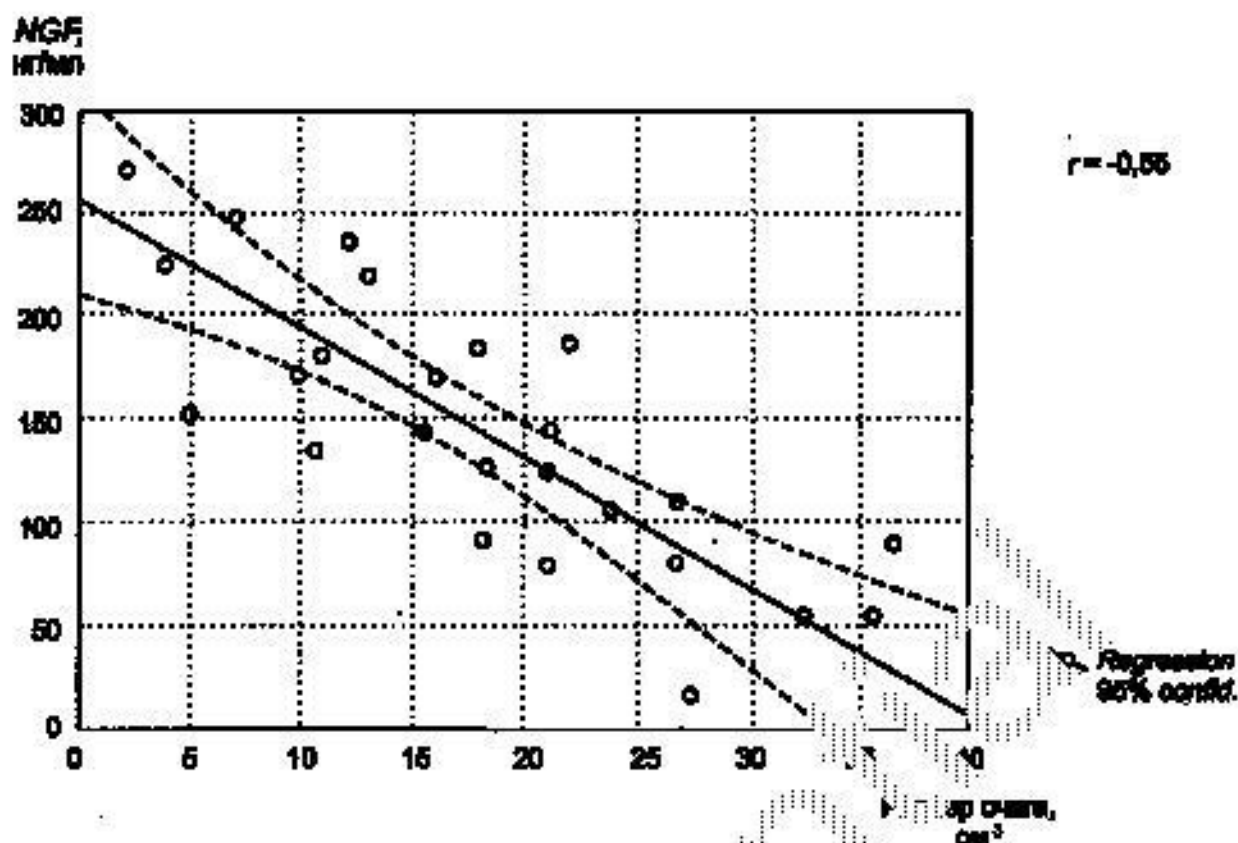


Рис. 9.1. Корреляционная зависимость между уровнем NGF в cerebrospinalной жидкости больных в 1-е сутки и объемом инфаркта мозга на 5–7-е сутки после развития каротидного ишемического инсульта.

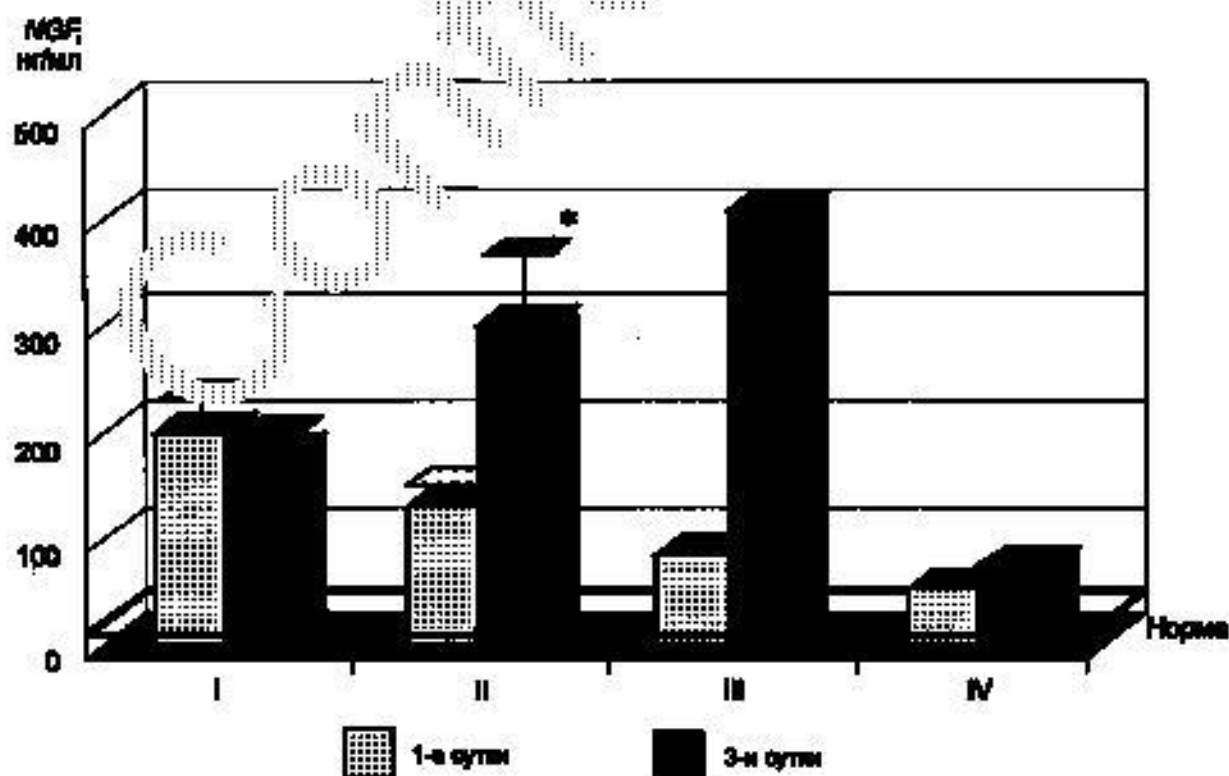
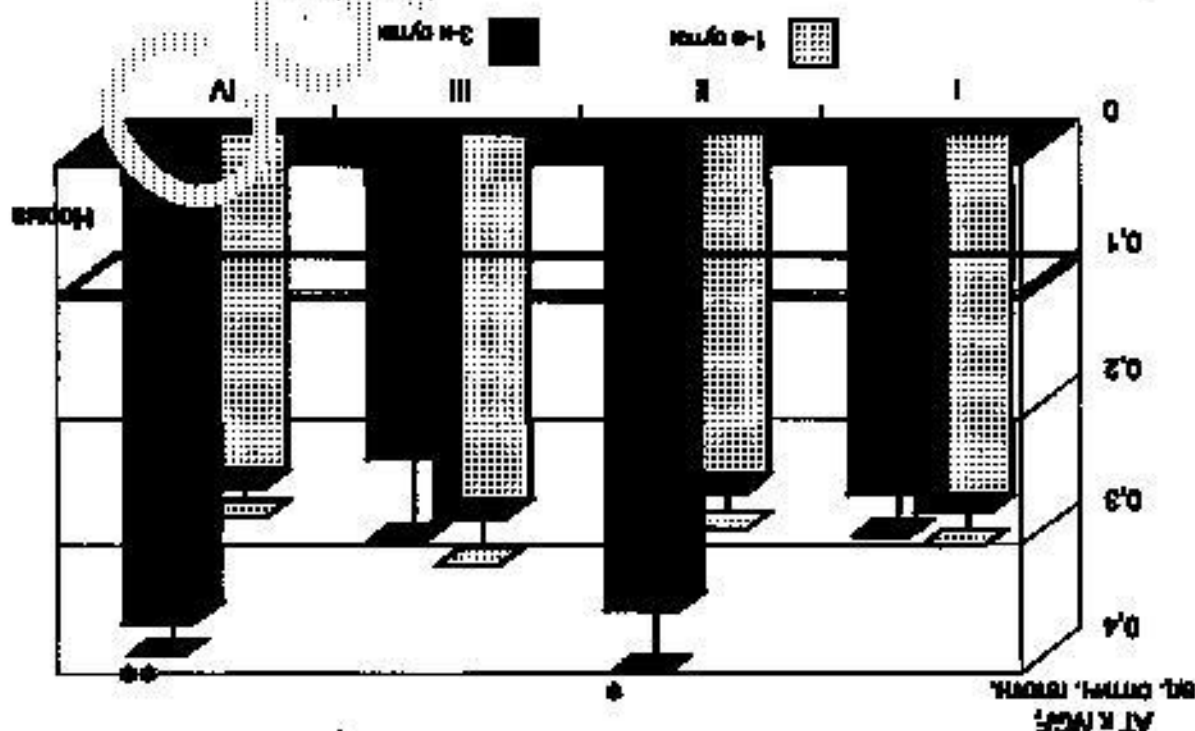


Рис. 9.2. Динамика содержания NGF в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом в зависимости от исхода заболевания. I — хорошее восстановление; II — тяжелая инвалидизация; III и IV — умеренная. * — различия с показателями в 1-е сутки; ** — $p < 0,05$.

Рис. 9.3. Динамика содержания актина NGF в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом. I — состояние средней тяжести; II — тяжелое состояние; III — хорошее восстановление; IV — тяжелая инвалидизация. * — различия с показателями в 1-е сутки; ** — $p < 0,05$.



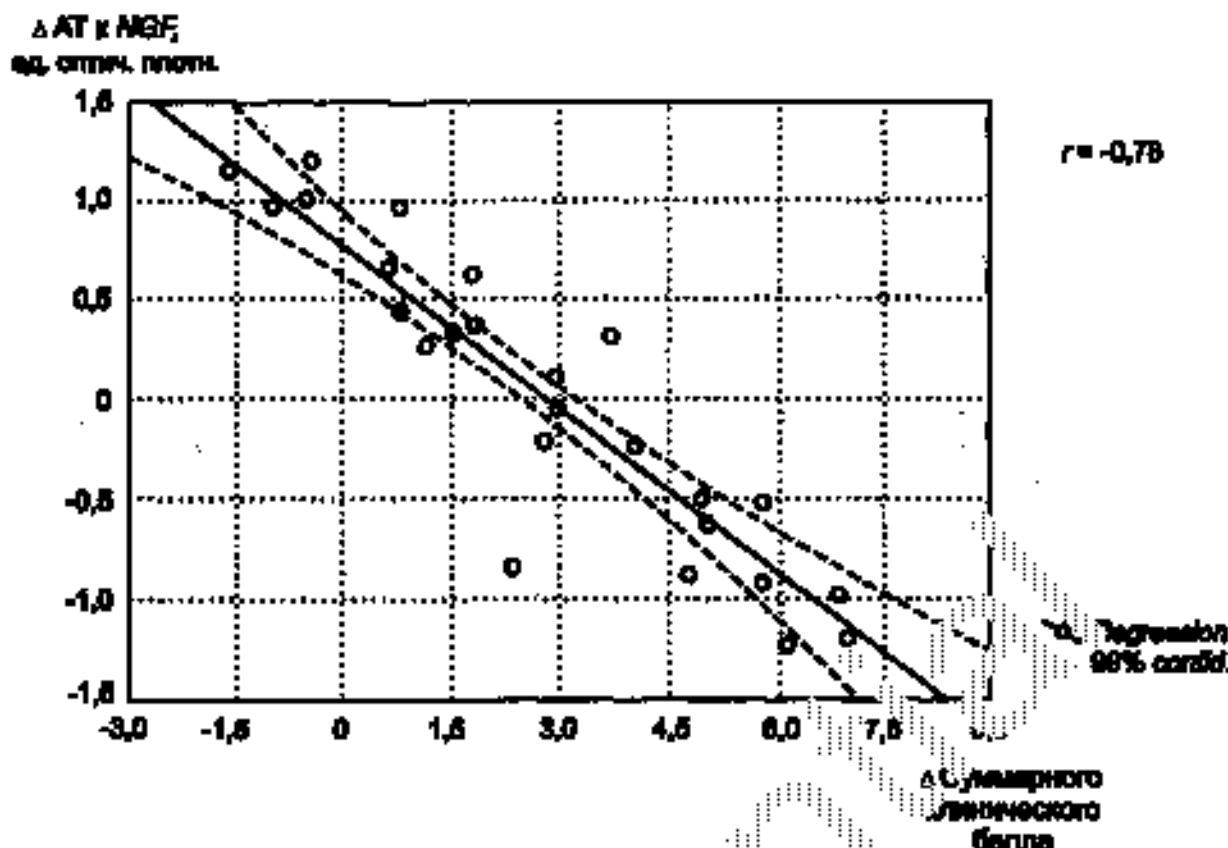


Рис. 9.4. Корреляционная зависимость между динамикой содержания антител к NGF в цереброспинальной жидкости у 3-х суток и динамикой суммарного клинического балла к 21-м суткам после развития артериального ишемического инсульта.

менялся. У всех этих больных к концу острого периода инсульта наблюдалось хорошее восстановление нарушенных функций. При вариантах «малого» инсульта с полным функциональным восстановлением в течение острого периода заболевания отмечалась тенденция к снижению уровня антител в среднем на 24 %. Вместе с тем в группе больных с тяжелым инсультом к 3-м суткам отмечалось достоверное повышение титра аутоантител к NGF (в среднем на 21,1 % по сравнению с исходными величинами; $p < 0,045$; см. рис. 9.3). Неоспоримо отметить, что нарастание титра аутоантител являлось наиболее выраженным и достоверным у больных с самыми неблагоприятными клиническими исходами: у впоследствии умерших больных на 120 и 160 %, в случаях формирования тяжелой инвалидизации на 71,2 % ($p < 0,01$). Изменения титра аутоантител к NGF к 3-м суткам инсульта обратно коррелировали с клинической динамикой к 21-м суткам (по величине прироста суммарного клинического балла) ($r = -0,78$; $p = 0,01$; рис. 9.4).

Таким образом, уже с первых часов после развития острой фокальной ишемии мозга в цереброспинальной жидкости повышался титр аутоантител к NGF, тогда как в сыворотке крови его повышения не обнаружено. Можно предположить, что аутоиммунные реакции к нейротрофину носят локальный характер и связаны с внутричерепным синтезом антител в первые дни инсульта. Отсутствие генерализованной аутоиммунной реакции с попаданием антител к NGF в кровь, по-видимому, может быть объяснено относительной сохранностью системы нейротрофинов в доинсультном периоде, когда у

больных не отмечается значимых функциональных нарушений. С учетом повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера, сопровождающей острую церебральную ишемию, нельзя исключить генерализацию аутоиммунной реакции к нейротрофинам в более поздние сроки инсульта.

Установленная тесная корреляция динамики титра аутоантител к *NGF* с клиническим исходом инсульта и степенью восстановления нарушенных неврологических функций подчеркивает роль аутоагрессии против нейротрофинов в развитии недостаточности трофического обеспечения мозга и прогрессировании повреждающих ишемических процессов.

9.2. Содержание нейроспецифического белка *S100* и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом

С учетом полученных ранее данных об участии аутоиммунных механизмов в формировании хронического деструктивного процесса в ткани мозга и ее предрасположенности к развитию очагового инфаркта [7, 8, 49—52] особый интерес представляло сопоставление выявленных изменений содержания фактора роста нервов и антителообразования к нему с реакцией на острую ишемию системы мембранного нейроспецифического белка *S100*, обладающего трофическими свойствами.

Впервые белок *S100* был выделен В. Мооре в 1965 г. Название «*S100*» связано со способностью белка растворяться в 100 % растворе сульфата аммония при *pH* 7,2. В настоящее время показано, что *S100* — это группа уникальных для нервной ткани кислых кальций-связывающих белков, отличающихся по заряду и массе, но тождественных иммунологически. Концентрация их в мозге в 100 000 раз превышает содержание в других тканях и составляет до 90 % растворимой фракции белков нервных клеток [4, 35]. Все фракции *S100* специфически взаимодействуют с кальцием, но отличаются друг от друга количеством кальций-связывающих центров (от 2 до 8) [4, 35, 57].

Большинство белков *S100* (до 85—90 % от общего содержания в нервной ткани) сосредоточены в астроцитах; 10—15 % расположены в нейронах, минимальное их количество определяется в олигодендроцитах. В настоящее время показано, что белки *S100* синтезируются глиальными клетками, а затем транспортируются в нейроны [24, 73]. В клетке они локализованы преимущественно в цитоплазме, а также в синаптической мембране и хроматине [20, 70].

Исследования последних лет позволили рассматривать белки *S100* в качестве одного из ключевых молекулярных компонентов сложных внутриклеточных систем, обеспечивающих функциональный гомеостаз клеток мозга путем сопряжения и интеграции разноплановых метаболических процессов [20]. Выделяют 4 основных молекулярных процесса, лежащих в основе биологической активности белков группы *S100*.

- **Первый** — связывание ионов Ca^{2+} и, как следствие, кальций-зависимое специфическое межмолекулярное взаимодействие белков *S100* с другими белками, сопряженное с изменением конформации белковых молекул. Взаимодействие происходит по следующей схеме: $\text{S100} + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{конформер} + \text{молекула-аггентор} \rightarrow \text{аллостерическая модуляция функциональной активности молекулы-аггентора}$. Обнаружены и частично идентифицированы около 20 белков и более 25 эндоген-

ных нейропептидов, способных специфически взаимодействовать с белками *S100*. Среди белковых лигандов *S100* идентифицированы щелочная фосфатаза, моноаминоксидаза, основной белок миелина [71, 76], нейроспецифическая енолаза [92], ряд ДНК-связывающих белков и гликопротеинов [20].

- **Второй** — модулирование активности протеинкиназ и фосфопро-теинкиназ [4, 20]. Взаимодействие происходит по похожей схеме: $S100 + Ca^{2+} \rightarrow$ конформер + протеинкиназа $\rightarrow$ фосфопро-теинкиназа $\rightarrow$ влия-ние на фосфорилирование/дефосфорилирование белковых молекул (посттранскрипционная модификация).
- **Третий** — влияние на состояние микротрубочек нервных клеток. В ре-зультате ассоциации/диссоциации молекул *S100* и ионов Ca^{2+} проис-ходит изменение концентрации последнего в клетке, что определяет процесс перестройки и диссоциации микротрубочек. Таким образом, *S100* косвенно воздействует на внутриклеточный транспорт [20, 21].
- **Четвертый** — влияние на процессы обмена и специфической репеп-ции нейромедиаторов. *S100* изменяют уровень специфического свя-зывания лигандов (ацетилхолина, ГАМК, дофамин, серотонин, норадреналина) с рецепторами.

Таким образом, различные изоформы и конформеры белков *S100* пред-ставляют наиболее универсальные из известных маломолекул, которые участвуют в регуляции практически всех основных метаболических, цитопла-зматических и ядерных метаболических процессов, связанных с обеспечени-ем механизмов восприятия и интеграции поступающей в нервную систему информации [5, 32], принимают участие в остром ответе генов раннего реагирова-ния, в реализации генетических программ апоптоза и антиапоптозной за-щиты [78] (см. рис. 7.1). Регуляторный потенциал белков *S100* реализуется через системы вторичных мессенджеров и прежде всего внутриклеточных ионов Ca^{2+} . Кальций-зависимая реструктуризация пространственной структуры белков *S100* позволяет им функционировать в качестве специфичес-ки связывающихся с определенными молекулами нервной ткани, аллостери-чески регулируя активность последних или образуя с ними надмолекуляр-ные комплексы с измененными функциональными свойствами. Таким об-разом, белки *S100*, не являясь в функциональном отношении ни одно из ключевых метаболических звеньев, участвуют в их системной интеграции, что и составляет молекулярную основу организации специфических физио-логических функций нервной системы.

Экспериментально доказано участие белков группы *S100* в регуляции процесса направленного роста отростков нейронов, в завершении нейро-онтогенеза как в морфологическом, так и функциональном отношении, в становлении основных форм врожденного поведения, в механизмах памяти и обучения.

Белки *S100* не являются жизненно важными компонентами (как фер-менты гликолиза или окислительного фосфорилирования), необходимыми для поддержания общего гомеостаза живых клеток. Характерно, что экспе-риментальные воздействия на белки *S100* обычно не сопровождаются за-метным ухудшением соматического состояния животных, но одновременно приводят к резким и разнообразным нарушениям интегративной функции мозга, информационного гомеостаза, в обеспечении и оптимизации кото-рого и заключается их общебиологическая функция [23].

Одним из представителей группы *S100* является *S100 β* , наиболее специ-фичный белок мозговой ткани. Известно, что при деструкции мозговой

ткани *S100β* наряду с другими белками этой группы может обнаруживаться в крови и cerebrospinalной жидкости больных. Белок *S100β* представляет особый интерес в связи с недавним выявлением у него нейроростовых и нейротрофических свойств. Установлено, что добавление малых доз *S100β* в нейрональную культуру обеспечивает поддержание жизнеспособности нейронов, возможность образования и роста нейритов, тогда как в контрольных культурах нервные клетки не выживают. Можно предположить участие белка *S100β* в процессах регенерации ткани мозга после ишемических нарушений.

Первое применение белков *S100* (основной фракции) в клинической практике относится к 1973 г., когда K. Haglid с соавт. [54] обнаружили их высокие концентрации в ткани опухоли головного мозга. Начало же использования белков *S100* как маркеров поражения нервной ткани приходится на 80-е годы, когда G. Michetti с соавт. [72] обнаружили *S100* в cerebrospinalной жидкости только тех больных, у которых заболевание было связано с повреждением мозга. С помощью моноспецифической поликлональной антисыворотки против белков *S100* была определена их пороговая для нормы концентрация в cerebrospinalной жидкости — 6 нг/мл. В последнее время белкам *S100* как диагностическому критерию уделяется очень большое внимание. P. Martens с соавт. [68] определили основную фракцию белков *S100* у больных с острым инсультом и выявили их повышение в cerebrospinalной жидкости у 1/3 пациентов с обширным инсультом, причем при ишемическом характере инсульта их уровень достиг максимума на 3-и сутки, а при геморрагическом — к концу 1-х суток. N. Johnson, M. Libby [63], S. Blomquist с соавт. [38] предложили использовать *S100* в качестве биохимического маркера повреждения центральной нервной системы после сердечно-сосудистых операций и системным кровообращением. Высокие концентрации белков *S100* в ликворе к ним были обнаружены при черепно-мозговой травме [15], эпилепсии [82], шизофрении [12, 59], демиелинизирующих заболеваниях [71]. Определение *S100* применяют в гистологической диагностике опухолей головного мозга [28].

Исследования последних лет доказали возможность использования белков группы *S100*, в том числе *S100β*, в качестве маркера и прогностического критерия повреждения ткани мозга при развитии ишемического инсульта [37, 39, 88]. Общая концентрация белков этой группы при обширных ишемических инсультах составляет 0,4 нг/мл в сыворотке крови (при норме 0,2 нг/мл) и около 10 нг/мл в cerebrospinalной жидкости (при норме до 6 нг/мл) [6, 63]. Продемонстрирована корреляционная связь содержания общей фракции *S100* и белка *S100β* с размерами инфаркта мозга и клиническим исходом инсульта [39, 46, 68, 88].

Совместно с Н. И. нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (В.В. Шерет, И.А. Грудень с соавт.) было проведено исследование содержания белка *S100β* и аутоантител к нему в cerebrospinalной жидкости и сыворотке крови 25 больных с каротидным ишемическим инсультом (клиническое описание группы приведено в предыдущем разделе) [10, 25, 80].

Количественное определение белка *S100β* и уровня аутоантител к нему проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Содержание антигена и антител в cerebrospinalной жидкости оценивали дважды: в момент поступления больного в стационар (до начала лечения) и на 3-и сутки заболевания. Мониторирование титра первичных и вторичных (антиидиотипических) антител в сыворотке крови осуществляли на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки.

Для определения белка *S100 β* образцы цереброспинальной жидкости в дублях (двух репликах) вносили в лунки, кроме контрольной, полистиролового 96-луночного планшета для ИФА "ВНИИ Полимербыт" (Россия), по 50 мкл, разведенных 1:1 в буфере для сорбции антигена. Инкубировали 24 ч при температуре 4 °С. После инкубации планшет отмывали 3 раза буфером PBS-Твин с pH 7,2 и дистиллированной водой, после чего для устранения эффекта неспецифического связывания антигена с полистирольным покрытием в каждую лунку, кроме контрольной, добавляли по 100 мкл 1 % раствора альбумина. Инкубировали в течение 1 ч при температуре 4 °С. Отмывали, как описано ранее. На следующем этапе иммуноферментного анализа добавляли раствор антител к белку *S100 β* (моноклональные поликлональные аффинноочищенные IgG кролика) концентрацией 20 мкг/мл. Инкубировали в течение 24 ч при температуре 4 °С. Планшет с образцами отмывали 6 раз Трис-HCl-буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Вносили по 50 мкл в каждую лунку, кроме контрольной, конъюгата IgG козы против IgG кролика с пероксидазой хрена с рабочим титром 1:1000. Проводили инкубацию в течение 2 ч при температуре 37 °С. Отмывали 6 раз Трис-HCl-буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Затем вносили во все лунки, включая контрольную, по 50 мкл субстрата: ОФД в субстратном буфере с концентрацией 1 мг/мл. Перед непосредственным нанесением на планшет добавляли H_2O_2 из расчета 3,5 мкл на 10 мл субстрата. Реакцию проводили в темноте. Через 30 мин после начала реакции анализировали результаты на автоматическом иммуноферментном ридере по величине оптической плотности окрашенного субстрата. Концентрацию белка в цереброспинальной жидкости определяли по калибровочной кривой, построенной по известным стандартным растворам.

Для определения уровня антиоксидантной активности к белку *S100 β* в каждую лунку 96-луночного планшета, кроме контрольной, вносили по 50 мкл раствора белка *S100 β* с концентрацией 25 мкг/мл. Инкубировали 24 ч при температуре 4 °С. После инкубации планшет отмывали 3 раза буфером PBS-Твин с pH 7,2 и дистиллированной водой, после чего для устранения эффекта неспецифического связывания антигена с полистирольным покрытием в каждую лунку, кроме контрольной, добавляли по 100 мкл 1 % раствора альбумина. Инкубировали в течение 1 ч при температуре 4 °С. Отмывали, как описано ранее. На следующем этапе иммуноферментного анализа проводили титрование образцов плазмы доноров. Для этого во все ряды, кроме первого, с которого начинался контроль, вносили по 50 мкл Трис-HCl-буфера с pH 7,5. Затем в лунки первого ряда, кроме контрольных, помещали по 50 мкл исходного образца плазмы. Далее многоканальной пипеткой вместимостью 50 мкл переносили с заданной скоростью образец из второго в третий ряд и т.д. при интенсивном перемешивании. Инкубировали в течение 24 ч при температуре 4 °С. Планшет с разлитыми образцами отмывали 6 раз Трис-HCl-буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Вносили по 50 мкл в каждую лунку, кроме контрольной, конъюгата IgG козы против IgG человека с пероксидазой хрена с рабочим титром 1:1000. Проводили инкубацию в течение 2 ч при температуре 37 °С. Отмывали 6 раз Трис-HCl-буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Затем вносили во все лунки, включая контрольную, по 50 мкл субстрата: ОФД в субстратном буфере с концентрацией 1 мг/мл. Перед непосредственным нанесением на планшет добавляли H_2O_2 из расчета 3,5 мкл на 10 мл субстрата. Реакцию проводили в темноте. Через 30 мин после начала реакции анализировали результаты на автоматическом иммуноферментном ридере по величине оптической плотности окрашенного субстрата.

Для определения уровня антиоксидантической активности к белку *S100 β* в каждую лунку 96-луночного планшета, кроме бланковой, вносили по 50 мкл раствора антител к белку *S100 β* с концентрацией 20 мкг/мл. Инкубировали 24 ч при температуре 4 °С. После инкубации планшет отмывали 3 раза буфером PBS-Твин с pH 7,2 и дистиллированной водой, после чего для устранения эффекта неспецифического связывания антигена с полистирольным покрытием в каждую лунку, кроме контрольной, добавляли по 100 мкл 1 % раствора альбумина. Инкубировали в течение 1 ч при температуре 4 °С. Отмывали, как описано ранее. На следующем этапе иммуноферментного анализа проводили титрование образцов сыворо-

ток больных. Для этого во все ряды, кроме первого, с которого начинали раститровку, вносили по 50 мкл Трис- HCl -буфера с pH 7,5. Затем в лунки первого и второго ряда, кроме контрольных, помещали по 50 мкл исходного образца сыворотки. Далее многоканальной пипеткой вместимостью 50 мкл переносили разведенный образец из второго в третий ряд и т.д. при интенсивном перемешивании. Инкубировали в течение 24 ч при температуре 4 °C. Пластины с раститрованными образцами омывали 6 раз Трис- HCl -буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Вносили по 50 мкл в каждую лунку, кроме контрольной, конъюгата IgG козы против IgG человека с пероксидазой хрена с рабочим титром 1:1000. Проводили инкубацию в течение 2 ч при температуре 37 °C. Омывали 6 раз Трис- HCl -буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Затем вносили во все лунки, включая контрольную, по 50 мкл субстрата: ОФД в субстратном буфере с концентрацией 1 мг/мл. Перед непосредственным нанесением на пластку добавляли H_2O_2 из расчета 3,5 мкл на 10 мкл субстрата. Реакцию проводили в темноте. Через 30 мин после начала реакции анализировали результаты на автоматическом иммуноферментном ридере по величине оптической плотности окрашенного субстрата.

Концентрацию белка в растворах определяли спектрофотометрическим методом по Варбургу [9] по поглощению в ультрафиолетовой области спектра с помощью спектрофотометра DU-70 «Beckman» (США). Для этого измеряли оптическую плотность раствора белка при 260 (D^{260}) и 280 (D^{280}) нм, а затем по формуле подставляли в формулу: концентрация белка (мг/мл) = $1,55D^{260} - 0,76D^{280}$.

Исследования цереброспинальной жидкости в 1-е сутки инсульта выявили повышение концентрации белка $\text{S100}\beta$ на 50 % по сравнению с нормальным уровнем (до $7,6 \pm 0,6$ нг/мл при норме 5—10 нг/мл), а также нормальные титры аутоантител к нему (1:2, 1:4). Данные показатели значительно не изменялись к 3-м суткам заболевания ($p > 0,05$).

Обнаружение $\text{S100}\beta$ в цереброспинальной жидкости является следствием выхода белка в межклеточное пространство в результате разрушения нейрональных мембран, индуцированное накоплением внутриклеточных ионов Ca^{2+} и реакциями глутамат-медиации этого каскада. Возможно, ограниченное на несколько часов повышение уровня $\text{S100}\beta$ в цереброспинальной жидкости обусловлено нормальным титром аутоантител к нему в первые 3 дня заболевания. Клинические ограничения не позволяют оценить дальнейшую динамику титра антител в цереброспинальной жидкости, хотя теоретически можно предположить нарастание его уровня в более поздние сроки.

Интересно, что в отличие от NGF у всех исследованных больных уже в первые часы инсульта было установлено повышение титра аутоантител к $\text{S100}\beta$ в сыворотке крови. У 15 (60 %) больных титр был очень высоким (1:128, 1:56), у 10 (40 %) — умеренноповышенным (1:16, 1:32, 1:64). Повторное исследование на 3-и сутки заболевания не выявило значимой динамики уровня антител. Для уточнения давности образования первичных аутоантител в комплекс исследования было включено определение титра антиидиотипических (вторичных) антител к белку $\text{S100}\beta$. Исследование этих антител в 1-е сутки показало их низкий уровень у всех больных (1:2, 1:4), что подтверждало «свежесть» первичного антителообразования.

Клинико-иммунологический анализ выявил достоверные различия сывороточного титра антител к $\text{S100}\beta$ в зависимости от патогенетического варианта развития острого нарушения мозгового кровообращения. При атеротромботическом инсульте титр первичных антител был достоверно и значительно выше, чем при кардиоэмболическом и гемодинамическом ($p < 0,04$). Такие различия, по-видимому, не случайны. Можно предполо-

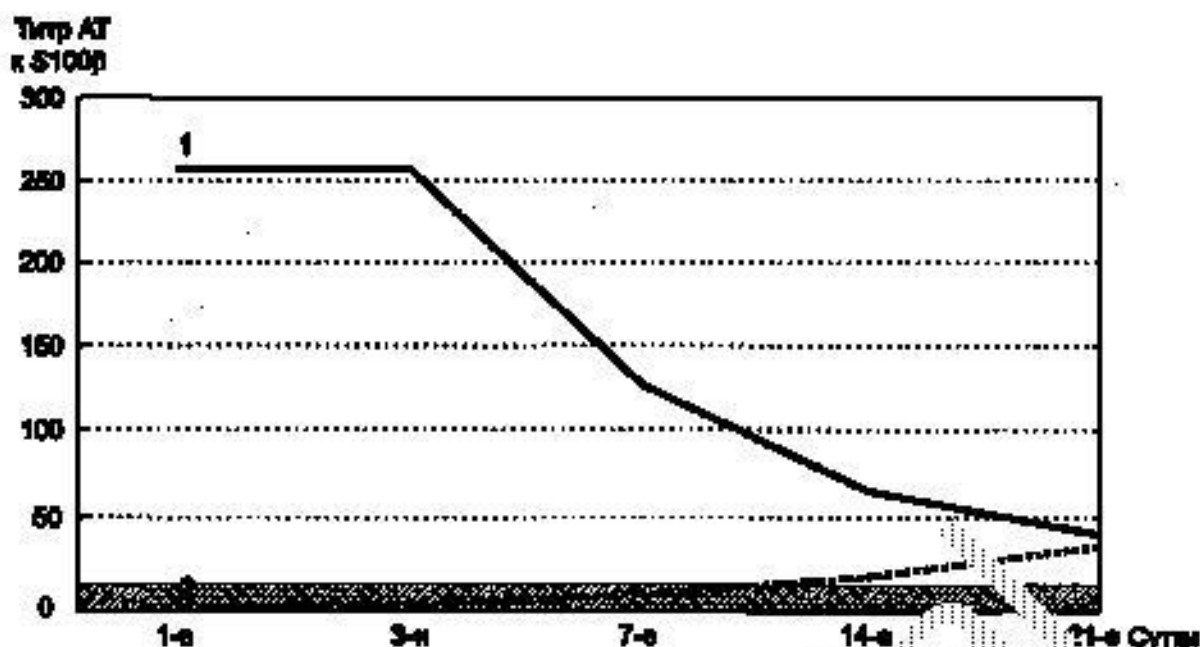


Рис. 9.5. Динамика титров первичных и вторичных АТ к S100β у пациентов с атеротромботическим ишемическим инсультом.

1 — первичные АТ; 2 — вторичные (антиидиотипические) АТ.

жить, что при длительном прогрессировании заболевания атеротромбоза формируются «фоновые» сосудисто-тканевые прецеденты, подготавливающие ткань мозга и гематоэнцефалический барьер к повреждению, чего не происходит при относительно внезапном возникновении эмболии или системного гемодинамического срыва.

Изучение динамики титров аутоантител у больных с атеротромботическим инсультом установило четкие временные закономерности первичного и вторичного антителообразования (рис. 9.5). Уровень первичных антител держался стабильно высоким вплоть до 7-х суток инсульта, после чего отмечалась тенденция к его снижению в среднем на 1 титр за 7 дней. При этом к 21-му дню полного реализация титра первичных антител не наступала. В то же время, начиная с 7-х суток, регистрировали последовательное повышение титра антиидиотипических антител — в среднем на 1 титр за 7 дней — максимум его уровня на 21-е сутки инсульта. Полученные результаты согласуются с экспериментальными данными [19, 58], показавшими, что среднее время, необходимое для инициации антителообразования, составляет 3–7 дней.

Быстрое повышение титра первичных аутоантител к S100β в сыворотке крови может быть следствием предшествующей сенсibilизации ткани мозга к своему структурному компоненту, что подтверждается максимальной представленностью аутоиммунных изменений при атеротромботическом варианте инсульта. Вместе с тем очень высокий уровень антител (1:256, 1:512) в сыворотке крови ряда больных в первые часы ишемии позволяет предположить, что антителообразование было начато за некоторое время до клинической манифестации инсульта. Таким образом, становится очевидным участие аутоиммунных механизмов в подготовке и реализации ответа ткани мозга на снижение мозгового кровотока и фокальную ишемию.

9.3. Содержание основного белка миелина и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных с ишемическим инсультом

Учитывая выявленную в первые часы ишемического инсульта аутоиммунную сенсibilизацию к белку *S100 β* , представляло интерес уточнить наличие аутоиммунных реакций и к другим структурным нейроспецифическим белкам, в том числе входящим в состав белого вещества головного мозга.

Основной белок миелина (ОБМ) — один из главных белковых компонентов миелина центральной нервной системы, составляющий около 30 % общего содержания протеинов в миелине. ОБМ не является интегральным мембранным белком. Различают его растворимую фракцию, присутствующую в цитоплазме олигодендроцитов перед включением в мембраны миелина, и нерастворимую, входящую в состав миелина. В миелине ОБМ локализован с цитоплазматической стороны эластоцитарной мембраны [43].

ОБМ играет важную роль в организации, сборке и поддержании структурной целостности миелина. Выделены участки бел. молекулы, стимулирующие рост астроглии (полипептидная цепочка 44—59), усиливающие синтез элементов соединительной ткани (полипептидная цепочка 44—166) [81]. Установлено, что ОБМ инактивирует ряд ингибиторов сериновых протеиназ — антитрипсина и микроглобулина, обладает лектиноподобной активностью, специфической к галактозам и галактозаминным остаткам [66].

Парентеральное введение ОБМ вызывает развитие аллергического лейкоэнцефалита, сопровождающегося диффузной демиелинизацией [11]. Было установлено, что различные пептидные фрагменты молекулы ОБМ могут проявлять энцефалитогенную активность. Наиболее вероятным носителем энцефалитогенной деятельности всего белка является нонапептид с последовательностью аминокислот 114—122 (*-Phe-Ser-Trp-Gly-Ala-Gly-Gln-Arg-*) [30].

Генная мутация, ведущая к недостаточному синтезу ОБМ у экспериментальных животных приводит к развитию демиелинизирующего процесса в мозге и появлению эпилептикоз (модель «трясущихся» мышей) [86]. Введение бел. на ранних стадиях эмбриогенеза в зародыши трансгенных животных предотвращает развитие характерной неврологической симптоматики и увеличивает продолжительность жизни [86].

Все опыты с белком ОБМ позволяют связать нарушения его метаболизма с развитием демиелинизирующего процесса. В связи с этим определение ОБМ и антител к нему проводили в основном у больных с рассеянным склерозом и другими демиелинизирующими заболеваниями. Деструкция белого вещества мозга сопровождается выходом ОБМ из пораженной ткани и накоплением его в цереброспинальной жидкости, в связи с чем уровень белка может являться чувствительным индикатором выраженности патологического процесса. Проникая через гематоэнцефалический барьер, ОБМ и его фрагменты стимулируют синтез антител к компонентам миелина, что поддерживает течение заболевания.

Исследования ОБМ при сосудистой патологии головного мозга фрагментарны. Экспериментально показано, что априорная сенсibilизация к ОБМ значительно ухудшает прогноз инсульта и увеличивает размеры ин-

фаркта мозга. В клиническом исследовании J. Ralfreuman с соавт. [75] было выявлено увеличение концентрации ОБМ в сыворотке крови больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения, сохранявшееся на протяжении первых 7 дней заболевания. Отмечена корреляция между уровнем ОБМ в сыворотке крови и прогнозом инсульта.

Совместно с НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (В.В. Шерстнев, М.А. Грудень с сотр.) в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета было проведено исследование содержания основного белка миелина и аутоантител к нему в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови 25 больных с каротидным ишемическим инсультом (клиническое описание группы приведено в разделе 9.1) [25, 80].

Количественное определение ОБМ и уровня аутоантител к нему осуществляли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Содержания антигена и антител оценивали дважды: в момент поступления больного в стационар (до начала лечения) и на 3-й сутки заболевания. Для количественного определения ОБМ использовали коммерческий иммуноферментный набор фирмы «ДИАплюс».

Для определения концентрации ОБМ образцы цереброспинальной жидкости вносили в лунки, кроме контрольной, полистироловых 96-луночного планшета для ИФА «ВНИИ Полимербыт» (Россия). В лунки добавляли буферный раствор для разведения проб в объеме 100 мкл. Готовый планшет помещали в рабочую камеру робота. Пробы тщательно перемешивали и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. После инкубации планшет отмывали 5 раз дистиллированной водой (350 мкл). Затем в лунки добавляли по 100-мкл конъюгата, тщательно перемешивали и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. Далее во все лунки, включая контрольную, добавляли 100 мкл рабочего раствора субстрата, который готовили за 10 мин перед использованием из расчета: 1 объем субстратного раствора ТМВ + 4 объема субстратного буфера H_2O_2 . Тщательно перемешивали и инкубировали в течение 15 мин при температуре 37 °С, постоянно встряхивая в темноте. Затем добавляли в каждую лунку по 100 мкл серной кислоты, тщательно перемешивали. После остановки реакции измеряли величину оптической плотности образцов от контрольного, пользуясь фотометром при длине волны 450 нм.

Для определения концентрации аутоантител к белку ОБМ в каждую лунку 96-луночного планшета, кроме контрольной, вносили по 50 мкл раствора ОБМ с концентрацией 25 мкг/мл в карбонатном буфере с pH 8,5. Инкубировали в течение 24 ч при температуре 4 °С. После инкубации планшет отмывали 3 раза буфером PBS-Твин-20 с pH 7,5 и дистиллированной водой, после чего для устранения эффекта неспецифического связывания антигена с полистирольным покрытием в каждую лунку, кроме контрольной, добавляли по 100 мкл 1 % раствора альбумина. Инкубировали в течение 4 ч при температуре 4 °С. Отмывали, как описано ранее. На следующем этапе иммуноферментного анализа проводили титрование образцов сывороток больных. В лунки с адсорбированным антигеном вносили по 50 мкл исследуемых сывороток больных и отрицательные контрольные пробы не менее чем в трех повторностях. Для количественного определения антител в сыворотке их титровали последовательным двукратным разведением в фосфатном буфере Твин-20 («Serva», Германия). Инкубировали в течение 24 ч при температуре 4 °С. Планшет с раститрованным образцами сыворотки отмывали 6 раз Трис- HCl -буфером с pH 7,5, раствором Твин-20 и дистиллированной водой. В каждую лунку, кроме контрольной, вносили по 50 мкл конъюгата IgG овцы против IgG человека с пероксидазой хрена с рабочим титром 1:500. Проводили инкубацию в течение 2 ч при температуре 37 °С. Отмывали 6 раз трис- HCl -буфером (с pH 7,5), раствором Твин-20 и дистиллированной водой. Затем вносили во все лунки, включая контрольную, по 50 мкл субстрата: ОФД в субстратном буфере с концентрацией 1 мг/мл. Перед непосредствен-

ным нанесением на плашку добавляли H_2O_2 из расчета 3,5 мкл на 10 мл субстрата. Реакцию проводили в темноте. Через 30 мин от начала инкубации реакцию останавливали добавлением во все лунки по 100 мкл 0,1 М раствора серной кислоты, после чего измеряли величину оптической плотности исследуемых образцов относительно контрольной пробы на автоматическом иммуноферментном ридере при длине волны 495 нм.

Определение содержания ОБМ в цереброспинальной жидкости показало значительную вариабельность значений концентрации белка в 1-е сутки инсульта. По выявленным результатам все больные были разделены на 3 группы. У пациентов *первой группы* содержание ОБМ при поступлении было нормальным, к 3-м суткам оно нарастало в среднем на 238 % ($p < 0,05$). Для больных *второй группы* были характерны нормальный уровень ОБМ в 1-е сутки и резкое (на 1309 %, $p < 0,004$) его нарастание к 3-м суткам. В *третьей группе* уже при поступлении содержание ОБМ у больных значительно (в 15–20 раз) превышало норму и продолжало увеличиваться к 3-м суткам. Проведение клиничко-иммунологических сопоставлений установило зависимость степени повышения содержания ОБМ от локализации и распространенности очага ишемии. У всех больных *первой группы* в МРТ головного мозга были выявлены ограниченные корковые инфаркты (менее 5 см³) (рис. 9.6). У больных *второй группы* обнаружены распространённые корково-подкорковые очаги (более 25 см³) или инфаркты в белом веществе мозга небольших размеров (до 5 см³). Высокое содержание ОБМ при поступлении в стационар наблюдалось у пациентов с обширными (более 15 см³) подкорковыми очагами ишемии (рис. 9.6). При этом корреляционной связи между концентрацией ОБМ и тяжестью инсульта, вариантом его патогенетического развития не выявлено ($r = -0,13$ и $-0,08$ соответственно).

Таким образом, лишь к 3-м суткам инсульта у всех больных отмечалось повышение содержания ОБМ в цереброспинальной жидкости, тогда как увеличение концентрации $S100\beta$ регистрировалось уже в первые часы после ишемии. Такое различие, по-видимому, отражает особенности метаболизма исследованных белков. Наиболее лабильный и чувствительный к изменениям кальциевого потока $S100\beta$ одним из первых реагирует на острую ишемию мозга, выходясь из привычных связей. Нарастание его концентрации в цереброспинальной жидкости по срокам примерно соответствует активизации реакций глутамат-кальциевого каскада. ОБМ попадает в цереброспинальную жидкость уже при свершившейся деструкции ткани мозга и является маркером морфологического повреждения белого вещества, что объясняет отсроченность его накопления.

В то же время в первые часы инсульта у всех больных обнаруживалось повышение титра аутоантител к ОБМ в сыворотке крови. Соотношение высоких (1:128, 1:256) и умеренноповышенных (1:16, 1:32, 1:64) титров было аналогичным установленному для $S100\beta$: 16 (64 %) и 9 (36 %) соответственно. Уровни повышения титра аутоантител к $S100\beta$ и ОБМ тесно коррелировали между собой ($r = 0,9$), отражая наличие априорной сенсibilизации организма больных с инсультом к разным структурным белкам мозга. Повторное исследование на 3-и сутки заболевания не выявило значимой динамики титра антител к ОБМ ($p > 0,07$ по сравнению с показателем 1-х суток). Не было установлено корреляции между концентрацией белка в цереброспинальной жидкости и титром аутоантител к нему в сыворотке крови.

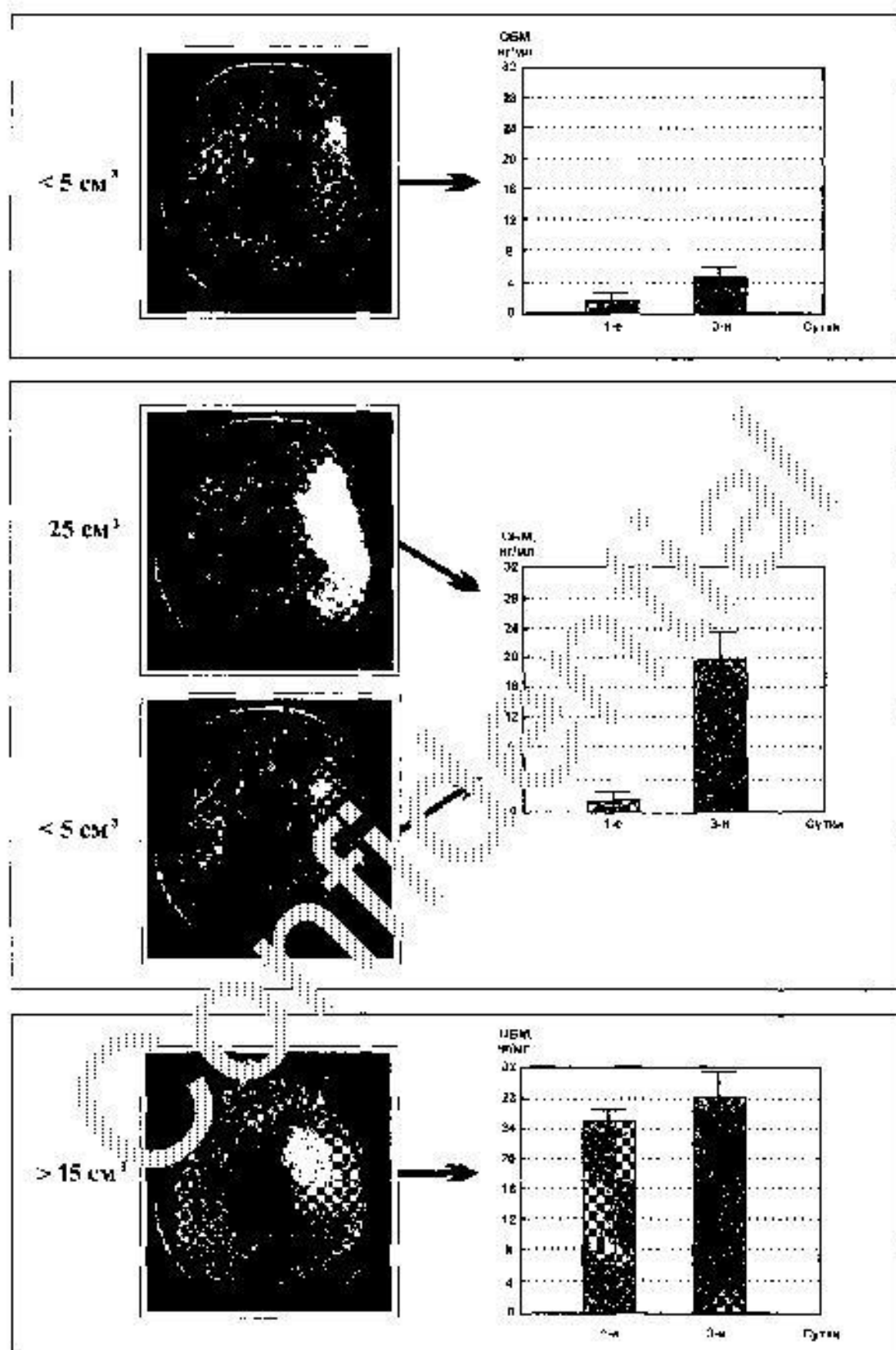


Рис. 9.6. Зависимость содержания ОБМ в цереброспинальной жидкости от локализации и размеров ишемического очага.

9.4. Содержание аутоантител к фактору роста нервов, белку S100 β и основному белку миелина в сыворотке крови больных с хронической ишемической болезнью мозга

Для подтверждения «доинсультного генеза» выявленных аутоиммунных реакций к структурным нейроспецифическим белкам было проведено исследование уровня аутоантител к NGF, S100 β и ОБМ в сыворотке крови 40 больных (10 мужчин и 30 женщин; средний возраст 64 года) с разными стадиями хронической ишемической болезни мозга (дисциркуляторной энцефалопатией I—III стадий) [29, 80]. Диагноз дисциркуляторной энцефалопатии и ее стадии устанавливали на основании клинических критериев, разработанных Е.В. Шмидтом и Г.А. Максудовым [33], данных нейропсихологического исследования по методике А.Р. Лурии, результатов КТ и МРТ головного мозга, сосудистых методов исследования (ультразвуковая доплерография экстра- и интракраниальных сосудов мозга, магнитно-резонансная ангиография).

У всех наблюдаемых больных дисциркуляторная энцефалопатия развивалась на фоне атеросклероза и артериальной гипертензии, которая у 24 (60 %) больных носила стойкий характер, а у 16 (40 %) — проявлялась в виде отдельных кризов. При проведении ультразвуковой доплерографии у всех больных обнаружены атеросклеротические изменения и стенозирующие процессы как минимум в одной из магистральных артерий головы. В 6 (10 %) случаях имели место гемодинамически значимые стенозы или окклюзии сосудов мозга.

У 30 (75 %) больных была диагностирована дисциркуляторная энцефалопатия I—II стадии, которая клинически проявлялась астеническим синдромом с несистемным головокружением, головной болью, расстройствами памяти, снижением внимания, умственной работоспособности, повышенной утомляемостью, нарушением сна, общей слабостью, а также микроочаговой неврологической симптоматикой в виде слабости конвергенции, установочного нистагма, сухости языка, анизорефлексии, умеренных координаторных нарушений. У 10 (25 %) пациентов была выявлена дисциркуляторная энцефалопатия III стадии с выраженными интеллектуально-мнестическими расстройствами (в 5 случаях) и акинетико-ригидным синдромом (в 5 случаях).

При КТ и МРТ головного мозга у всех больных отмечались признаки атрофического гидроцефалии, на фоне которой у 4 пациентов обнаружен выраженный лейкоцеллозис, у 5 — мелкие постинсультные кисты.

Наблюдение за больными осуществляли на протяжении 18 мес с шестикратным повторением клинико-иммунологических исследований: первое — «фоном», не связанное с какой-либо терапией; второе — контрольное (через 2 нед после первого) — для определения стабильности титра антител; третье — по окончании 2-недельного курса нейропротективной терапии глицином; четвертое — через 6 мес после третьего исследования (без терапии); пятое — по окончании 4-недельного курса нейропротективной терапии глицином; последнее шестое исследование — через 6 мес после пятого исследования (без терапии).

Исследование в сыворотке крови аутоантител к NGF ни у одного наблюдаемого больного не определило значимого повышения титра. Среднее по группе значение титра составило $0,71 \pm 0,06$ ед. оптич. плотн. при нормальном уровне — $0,70 \pm 0,05$ ед. оптич. плотн. ($p > 0,05$). В то же время были

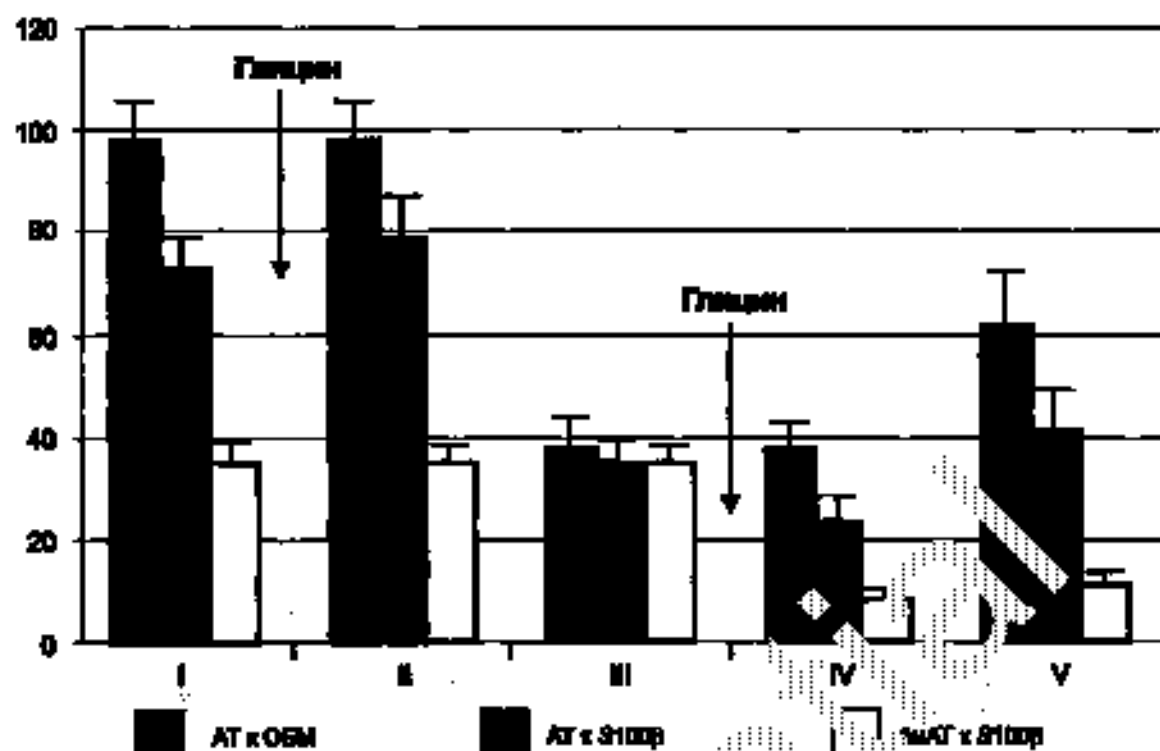


Рис. 9.7. Динамика титров АТ к нейроспецифическим белкам при проведении терапии глицином у больных с дисциркуляторной энцефалопатией.

I — «фоновое» (до начала терапии) исследование; II — через 2 нед после 1-го курса терапии глицином; III — через 6 мес после 2-го исследования; IV — через 4 нед после повторного курса терапии глицином; V — через 6 мес после 4-го исследования.

выявлены существенные различия в показателях титра аутоантител к структурным белкам S100β и OEM (рис. 9.7). Близкие к норме (1:4, 1:8) титры аутоантител к S100β были выявлены у 8 (20 %) больных, к OEM — у 10 (25 %). Умеренно повышенные (1:16, 1:32, 1:64) титры к S100β и OEM регистрировались в 24 (60 %) и 25 (62,5 %) случаях соответственно; высокие (1:128, 1:256) титры — у 8 (20 %) и 21 (52,5 %) случаев. Повторение через 2 нед контроля показателей титра антител выявило незначительные колебания титра антител (не более чем на 1 титр), что позволило считать выявленные изменения относительно стабильными.

Комплексный клиничко-иммунологический анализ не обнаружил взаимосвязи титров аутоантител к нейроспецифическим белкам в сыворотке крови с клиническими проявлениями и стадией дисциркуляторной энцефалопатии, вариантом течения артериальной гипертензии (стабильное или кризовое), выраженностью морфологических изменений ткани мозга (по данным КТ и МРТ) ($r < 0,15$). Повышение титра антител не сопровождалось клиническими признаками ухудшения состояния больных.

При сопоставлении титров антител к S100β и OEM оказалось, что у большинства (48 %) больных титр антител к OEM был выше титра антител к S100β. У 30 % исследованных показатели титров были одинаковы, у 22 % — преобладали значения титра антител к S100β. Это отражало индивидуальный характер морфологических изменений в ткани мозга на фоне хронической ишемии, а также свидетельствовало о преобладании у большин-

ства больных с дисциркуляторной энцефалопатией поражения белого вещества мозга. Вместе с тем проведенный сравнительный МРТ-иммунологический анализ не выявил различий в титрах антител к ОБМ в зависимости от выраженности лейкоареозиса и других изменений белого вещества. По-видимому, использованные методы нейровизуализации и иммунологические тесты отражают процессы, не сопоставимые по времени.

Были установлены определенные закономерности в соотношении между титрами первичных и вторичных антител к *S100β*. При нормальном титре первичных антител (1:2—1:8) уровень антиидиотипических был значительно повышен (1:32—1:128). Наоборот, наиболее высокому уровню первичных антител (1:128—1:512), как правило, соответствовал нормальный титр антиидиотипических антител. С учетом предварительных данных, полученных при ишемическом инсульте, можно полагать, что высокий индекс соотношения первичных и вторичных аутоантител является критерием «остроты» аутоиммунных процессов и, следовательно, патологической проницаемости гематоэнцефалического барьера.

Всем наблюдаемым пациентам с дисциркуляторной энцефалопатией проводили повторные курсы нейропротективной терапии глицином (сублингвально в суточной дозе 600 мг) (см. раздел 14.5). Комплексное клиническое (неврологическое, нейропсихологическое) исследование показало улучшение общего состояния больных на фоне лечения: уменьшалась выраженность несистемного головокружения, повышалась память, работоспособность, общая активность, в то время как клинически неврологическая симптоматика оставалась прежней. В наших иммунологических исследованиях анализ свидетельствовал о том, что влияние курсов нейропротективной терапии на иммунную систему имело отсроченный характер: по-видимому, необходим некий промежуток времени для активации титрообразования, так и для снижения уровня уже имеющихся титров. Только через несколько недель после проведения первого курса терапии глицином у пациентов было выявлено значительное снижение титра первичных и вторичных аутоантител к нейроспецифическим белкам: у 50 % — до 1:2—1:8, что соответствовало норме; у 35 % — до 1:16 (см. рис. 9.7). Проведение повторного курса нейропротекции привело к дальнейшему снижению титра аутоантител, однако через 6 мес после прекращения приема глицина вновь проявлялась умеренная тенденция к его нарастанию.

Необходимо отметить, что у 3 пациентов за время наблюдения были зарегистрированы острые нарушения мозгового кровообращения, имевшие различия в глубине и выраженности очагового морфологического дефекта на МРТ головного мозга. У 2 из них нарушения мозгового кровообращения развились на фоне повторного курса глицина и протекали как транзиторные ишемические атаки без формирования очага инфаркта. У третьего больного нарушение мозгового кровообращения возникло через 4 мес после окончания повторного курса глицина и характеризовалось тяжелым течением и обширным корково-подкорковым ишемическим поражением. Выявленные различия подчеркивают роль нейропротекции в торможении аутоагрессии к нейроспецифическим белкам и профилактике грубых морфологических повреждений ткани мозга на фоне нарушений его кровоснабжения.

Итак, проведенное мониторинговое клинико-иммунологическое исследование больных с хронической ишемической болезнью мозга подтвердило основные результаты, полученные при обследовании больных с острым ишемическим инсультом. Ни в одном случае до клинической манифестации инсульта не было обнаружено увеличения титра аутоантител к фактору

роста нервов в сыворотке крови, что отражало отсутствие «доинсультной» сенсibilизации ткани мозга к нему и объясняло локальность внутримозгового аутоиммунного ответа в первые сутки инсульта. Вместе с тем у большинства больных был установлен повышенный уровень первичных аутоантител к структурным нейроспецифическим белкам S100 β и ОБМ. Вариабельность степени повышения титра первичных антител и индекса его соотношения с титром антиидиотипических антител отражала наличие в группе больных с разной «остротой» аутоиммунных процессов, а различия в соотношениях антител к S100 β и ОБМ — индивидуальные топографические особенности деструктивных процессов в ткани мозга.

Таким образом, при относительной функциональной сохранности больных с хронической ишемической болезнью мозга у них развивается генерализованная аутоиммунизация к структурным компонентам нервной ткани. Аутоиммунные процессы принимают участие в формировании «фонового» сосудистого повреждения мозга (энцефалопатии) и predisполагают церебральную ткань к развитию инфаркта в ответ на острое снижение мозгового кровотока.

Нормализация титра аутоантител к S100 β и ОБМ в результате терапии глутинном, сопровождавшаяся улучшением клинического состояния больных, позволяет предположить профилактическую значимость курсов нейротропной терапии для уменьшения риска развития крупноочаговых инфарктов на фоне острого нарушения мозгового кровообращения.

Литература

1. Березин В.А. Нейрохимия 1990; 1 (1): 114—127.
2. Березин В.Ф. Специфические белки нервной ткани. — Киев, 1990.
3. Гатнушкина И.В. Иммунологический барьер мозга. — М.: Медицина, 1994: 198.
4. Грудень М.А., Попова А.Г. Выходы 1994; 52 (6): 915—917.
5. Грудень М.А., Староженко И., Терещук В.В. Регуляторные антитела к нейротрофическим факторам: клеточное экспериментальное исследование. В кн.: Нейроиммунопатология. — М., 1994: 19—20.
6. Гусев Е.И., Скворцова И. Методы обследования и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990.
7. Гусев Е.И., Скворцова И., Изыканова Г.А. и др. Журн неврол и психиатр 1996; 5: 68—72.
8. Гусев Е.И., Скворцова И., Коваленко А.В., Соколов М.А. Журн неврол и психиатр 1996; 2: 65—68.
9. Досаев Р., Элисеи И., Элисеи У., Дюжон К. Справочник биохимии. — М., Мир. — 1994.
10. Ефремов Н.М., Скворцова В.И., Грудень М.А. и др. Изучение содержания белка S100 β и первичных и вторичных антител к нему у больных с острой церебральной ишемией в зависимости от патогенетических вариантов инсульта. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000: 294.
11. Жабовитский Ю.М. Демиелинизирующие заболевания нервной системы в эксперименте и клинике. — Минск, 1975: 21—26.
12. Карась И.Ю. Автореф дисс. канд. мед наук. — Томск, 1988.
13. Крыжановский Г.Н., Луценко В.К. Успехи совр биол 1995; 115 (1): 31—49.
14. Дилетный Н.И. Физиологич журнал Киев, 1988; 34 (2): 112—118.
15. Дилетный Н.И., Черненко Т.М., Комиссаренко С.В. и др. Журн невропатол и психиатр 1993; 93: 50—53.
16. Малашица Ю.А. Иммунологический барьер мозга. — М., 1986.

17. Малашиха Ю.А. Иммунология 1990; 3: 12—15.
18. Малашиха Ю.А. Интерн журн иммунол реабилитол 1995; 1: 10—17.
19. Поля У. Иммунология (в 3-х томах). — М.: Медицина, 1988; 2: 345.
20. Полетаев А.Б. Дисс. д-ра мед наук. — М., 1984.
21. Полетаев А.Б., Мецлерова О.Д. Биохимия 1982; 47 (11): 1835—1838.
22. Полетаев А.Б., Селифанова О.П. Нейрохимия 1987; 6 (4): 572—580.
23. Полетаев А.Б., Шерстнев В.В. Успехи современной биологии 1987; 103 (1): 124—132.
24. Сандаков В.Б. Нейрохимия 1984; 3 (2): 116—123.
25. Скорцова В.И., Ключник Т.П., Стаховская Л.В. и др. Изучение аутоантител к фактору роста нервов у больных с острой и хронической ишемией головного мозга. — В кн.: Новые технологии в неврологии и нейрохирургии на рубеже тысячелетий. — Ступино 1999; 181—182.
26. Скорцова В.И., Грудень М.А., Стаховская Л.В. и др. Структурные нейроспецифические белки (S100 и основной белок миелина) и аутоантитела к ним как маркеры нейрониммунопатологических реакций при ишемической болезни головного мозга. — В кн.: Новые технологии в неврологии и нейрохирургии на рубеже тысячелетий. — Ступино 1999; 180—181.
27. Скорцова В.И., Мясоедов Н.Ф., Ключник Т.П. и др. Изучение содержания фактора роста нервов и антител к нему у больных с острой церебральной ишемией. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 332—333.
28. Турусов В.С. Арх патол. 1990; 52 (1): 71—78.
29. Хадасиева М.Х., Скорцова В.И., Шерстнев В.В. и др. Изучение нейротрофических факторов и аутоантител к ним у больных с хронической ишемией головного мозга. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 341.
30. Халлов А.П., Баскаева Т.С. Бюлл экск биол. 1986; 10: 430—434.
31. Чеховин В.П., Рябухин И.А., Белопольский В.В. и др. Клональные антитела в нейробиологии. — Новосибирск, 1995; 50—100.
32. Шерстнев В.В. Дисс. д-ра мед наук. — М., 1985.
33. Шмидт Е.В., Максудов Г.А. Журн невропатол и психиатр 1971; 1: 3—15.
34. Шмарк М.Б. Мозгоспецифические белки (антигены) и функция нейрона. — М., 1989.
35. Эйтингер Э. Белки мозга и СМА. — М.: Мир, 1988.
36. Abrahams H.D., Butternorth R.J., Shepherd R.A. Ann Clin Biochem 1997; 34 (4): 366—370.
37. Aurell A., Karlsson B., Zbornikova M. Stroke 1987; 18: 911—918.
38. Blomquist S., Johansson S., Sjöström J.O. J Cardiothorac Vasc Anesth 1997; 11: 699—703.
39. Butternorth R.J., Shepherd R.A., Bath P.V. Stroke 1998; 29: 730.
40. Chen S.-C., Li Y., Soare J., Morgan J.I. Adv Neurol 1996; 71: 433—450.
41. Clarke A., Purdie L., Harrison D.G. et al. Nature 1993; 362: 849—852.
42. Davies A.M. Trends Genet 1988; 4: 139—143.
43. Davies L., Santhanam R. J Neurochem 1974; 22: 107—111.
44. Deckwerth T.L., Hanson E.M., Jr. J Cell Biol 1993; 123: 1207—1222.
45. Dropcho E.J., Chen Y.T., Posner J.B., Old L.J. Proc Natl Acad USA 1987; 84: 4552—4556.
46. Fassbender K., Hennerici M., Do Uman M. et al. Lab Clin Med 1997; 130 (5): 535—539.
47. Festoff B.W., Israel R.S., Engel W.K. Neurol 1977; 27: 963—970.
48. Freeman R.S., Estus S., Jonson E.M., Jr. Neuron 1994; 12: 343—355.
49. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. Cerebrovasc Dis 1996; 6 (2): 44.
50. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Burd G.S. et al. J Neurol Sci 1997; 150: 81—82.
51. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Raevsky K.S. et al. Eur J Neurol 1997; 4 (1): 78.
52. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. Cerebrovasc Dis 2000; 10: 49—60.
53. Gwag B.J., Canzoniero L.M., Sensi S.L. Neuroscience 1999; 90 (4): 1339—1348.
54. Haglid K., Carlsson A., Stenroos D. An immunological studies of human brain tumors concerning brain-specific protein S100 and 14-3-2. Acta Neuropathol 1973; 24: 187—192.

55. Holzfeld A. *Ann Neurol* 1989; 25: 531—538.
56. Huber M., Heiss W.D. *Semin Thromb Hemost* 1996; 22 (1): 53—60.
57. Isobe T., Ishoka N. *Biochem Internat* 1983; 6 (3): 419—426.
58. Jager L. *Klinische Immunologie und Allergologie* 1988; 1 (3): 3.1.4.
59. Jancovic B.D., Jaculle S. *Horvat J Clin Exp Immunol* 1980; 40: 598—602.
60. Jerne N. *Bioaci Res* 1985; 5 (4): 439—451.
61. Johansson B.B. *Cerebrovasc Dis* 1995; 5: 278—281.
62. Johnson E.M. Jr., Greenlund L.J., Atkins P.T., Hsu C.Y. *J Neurotrauma* 1995; 12 (5): 843—852.
63. Johansson N., Liebtry M. *Stroke* 1992; 2: 123—125.
64. Kang H., Schuman E. *Science* 1995; 267: 1658—1662.
65. Kagure K., Yamasaki Y., Matsuo Y. et al. *Acta Neurochir* 1996; 66: 40—43.
66. Lisak R.P., Zweiman D. *New Engl J Med* 1977; 297: 850—858.
67. Marchetti B., Gallo F., Romeo C. et al. *Ann NY Acad Sci* 1996; 784: 209—236.
68. Martens P., Raabe A., Johansson P. *Stroke* 1998; 29: 2363—2366.
69. Meisner H., Czech P. *Curr Biol* 1991; 3: 474—483.
70. Michetti G., Miani N., De Renzi G. et al. *J Neurochem* 1974; 22 (2): 179—242.
71. Michetti G., Missaro A., Murazio M. *Neurosci J.* 1979; 11 (2): 171—180.
72. Michetti G., Missaro A., Russo G., Rigon C. *J Neurol Sci* 1980; 44: 1—2.
73. Moister D. *J Neurochem* 1984; 42 (6): 1536—1541.
74. Orgogozo J.M., Dartigues J.F. In: *Acute Brain Ischemia: Medical and Surgical therapy* (Battistini N., Courbier R., Fieschi C., Florani P., Pilon F. eds.) New York, Raven Press 1986; 282—289.
75. Palfreyman J. *Clin Chim Acta* 1979; 92 (3): 403—409.
76. Perumal A.S. *J Neurochem* 1976; 27 (1): 173—177.
77. *Scandinavian Stroke Study Group Stroke* 1985; 16: 5—89.
78. Scotto C., Deloulme J.C., Rousseau D. et al. *Mol Cell Biol* 1998; 18 (7): 4272—4281.
79. Scotto C., Mrely Y., Ohshima H. et al. *J Biol Chem* 1995; 273 (3): 3901—3908.
80. Skvortsova V.I., Gusev E.I., Sherstnev V. et al. *Cerebrovasc Dis* 2000; 12 (3).
81. Sheffield W., Kim S. *Brain Res* 1977; 131: 586.
82. Solimena M., Folli F., Denis-Donin F. *J Biol Chem* 1994; 269 (16): 1012—1020.
83. Stabberod P., Tomasevic G., Krumme J., Wiesel T. *Abstr Soc Neurosci* 1994; 20: 616.
84. Thompson N. *Semin Immunopathol* 1995; 8 (1): 57—70.
85. Twitchell T.E. *Brain* 1951; 74: 13—40.
86. Ulrich J. *Acta neuropathologica* 1993; 43: 77—83.
87. Waters C. *RBI Neurotrauma* 1997; Newsletter for Neuroscientist 1997; XIII (2): 2—7.
88. Wunderlich M.T., Ebert D., Yatz J. et al. *Stroke* 1999; 30: 1190—1195.
89. Yamasaki Y., Matsuo Y., Matsuo N. et al. *Stroke* 1995; 26: 318—323.
90. Yamasaki Y., Suzuki T., Tanaka H. et al. *Neurosci Lett* 1992; 142: 45—47.
91. Yamasaki Y., Tanaka H., Tanabe M. et al. *J Cereb Blood Flow Met* 1991; 13: 113.
92. Zamezly, Zamezly C., Keller A. *Development Neuroscience*. (Karger S.ed.). New York 1982.

Глава 10

Программированная смерть клетки; апоптоз

До 80-х годов XX столетия гибель нейронов при острой церебральной ишемии ассоциировали лишь с формированием некроза ткани мозга. Однако в конце века была установлена роль другого механизма, вызывающего инфарктные изменения — апоптоза, вида программированной клеточной смерти [56].

Термин «апоптоз», предложенный в 1972 г. английскими учеными J.F.R. Kerr, A.N. Wyllie и A.R. Currie, состоит из двух греческих слов и означает в буквальном смысле «отделение лепестков цветка», а применительно к клетке — особый тип смерти путем деления ее на части («апоптозные тельца»), которые впоследствии фагоцитируются соседними клетками разного типа.

Исследуя нормальную и патологическую ткани, J.F.R. Kerr с соавт. [41] обнаружили, что умирающие клетки делятся на 2 категории. В сильно поврежденных тканях преобладали процессы некроза, которые затрагивали целые клеточные поля и характеризовались массивной дегенерацией клеток с набуханием и фрагментацией оргanelл, разрушением мембран, лизисом клеток, выходом внутриклеточного содержимого в окружающую ткань и развитием воспалительного ответа. Как было показано позже, некроз всегда обусловлен грубой патологией, его механизмы не требуют затрат энергии, и предотвратить его можно только, устранив причину повреждения [14, 17, 71].

Апоптозные клетки, напротив, расположенные некротическим не были найдены в соприкосновении друг с другом, а располагались по одиночке или небольшими группами и были разбросаны по всей ткани. Они имели меньший размер, неизмененные мембраны и органеллы наряду с признаками сморщивания цитоплазмы и митохондриальными цитоплазматическими мембран-связанными выпячиваниями. Благодаря сохранности мембран не происходило распространения лизических ферментов в окружающие клетки, в связи с чем не наблюдалось ни повреждения и воспалительной реакции ткани, что в настоящее время признано одним из важных морфологических отличий апоптоза от некроза [79]. И сморщенные клетки, и апоптозные тельца содержали нетронутые массы конденсированного хроматина. Результатом последовательной деструкции ДНК в апоптозных клетках являлась невозможность их репликации (воспроизведения) и участия в межклеточных взаимодействиях, так как эти процессы требуют синтеза новых протеинов. Умирающие клетки эффективно удалялись из ткани с помощью механизма фагоцитоза, включающегося в первые минуты—часы после смерти. Позже было установлено, что при ограниченной способности к фагоцитозу и сохранении апоптозных клеток в ткани более 1—2 дней их мембраны также дезинтегрируются и возникает «вторичный» некроз (лизис клетки, умершей апоптозной смертью) [79]. Основные различия процессов некроза и апоптоза суммированы в табл. 10.1.

Т а б л и ц а 10.1. Признаки развития процессов некроза и апоптоза

	Пассивный	Активный
1. Характеристика процесса	Пассивный	Активный
2. Затраты энергии	Нет	Есть
3. Потребность в РНК	Нет	Есть
4. Необходимость белкового синтеза	Нет	Есть
5. Деградация ДНК	Неспецифическая	Специфическая фрагментация
6. Морфологические черты: распространенность мембраны органеллы конденсация хроматина цитоплазматические мембран-связанные выпячивания	Обширные клеточные потери Разрушение Набухание и фрагментация В беспорядочные массы Нет	Селективные клеточные потери Сохранение целостности Сохранение целостности В гомогенизированной массе Есть
7. Конечный результат	Отек и лизис клетки	Сокращение клетки и образование апоптозных тельц
8. Выход внутриклеточного содержимого в окружающую ткань	Есть	Нет
9. Воспалительная реакция	Есть	Нет
10. Фагоцитоз	Активный	Умеренно выраженный
11. Значимость	Есть, что патологическая	Физиологическая (процессы роста, развития, поддержания гомеостаза); возможно, патологическая
12. Интенсивность триггерного воздействия	Выраженная	Умеренная

Интересно отметить, что морфологические изменения, ассоциирующиеся с апоптозом, были описаны почти за 100 лет до наблюдения J.F.R. Kerr с соавт. В 1885 г. W. Flemming продемонстрировал полулуны пикнотического хроматина, типичные для апоптоза. В 1886 г. ботаник G. Berthold установил, что денатурация протеина ответственна за определенные формы клеточной смерти. В 1951 г. A. Glucksmann классифицировал различные формы клеточной смерти, выделив специфичную для эмбриона. В 1964 г. R.A. Lockshin и C.M. Williams, изучая метаморфоз насекомых, заметили регулярность, с которой специфические клетки умирают в явном предопределенной последовательности, и ввели термин — «программированная клеточная смерть». В 1966 г. было доказано, что подобная программированная смерть требует синтеза белков, что подчеркивает активную роль клетки в собственной смерти [76].

J.F.R. Kerr с соавт. [41] обнаружили апоптозные клетки и в патологических, и в физиологических условиях. Впоследствии выяснилось [58], что апоптоз является неотъемлемой составной частью процессов развития и го-

меостаза зрелой ткани. В норме организм использует этот генетически запрограммированный механизм в эмбриогенезе для уничтожения «избытка» клеточного материала на ранней стадии развития тканей, в частности в нейронах, не установивших контакты с клетками-мишенями и лишенных таким образом трофической поддержки из этих клеток [22]. В зрелом возрасте интенсивность апоптоза в центральной нервной системе млекопитающих существенно снижается, хотя остается высокой в других тканях [58]. В основе нормальной смены клеток лежат процессы апоптоза. Выраженное подавление апоптозной смерти приводит к развитию онкологических заболеваний [36]. Устранение пораженных вирусами клеток, развитие иммунного ответа также сопровождаются необходимой апоптозной реакцией.

Апоптоз тесно ассоциируется с запрограммированной клеточной смертью [53, 54]. Вместе с тем термин «запрограммированная клеточная смерть» в большей степени отражает функциональное назначение этого процесса, представляющего естественную часть жизни многоклеточного организма, связанного с метаморфозом и развитием [35, 68]. В то же время термин «апоптоз» предложен для описания типа клеточной смерти, отличающегося определенным набором морфологических черт [77]. В настоящее время наряду с апоптозом выделяют и другие варианты запрограммированной клеточной смерти.

Механизмы апоптоза «запускаются» тогда, когда вредное воздействие недостаточно сильно, чтобы вызвать некроз [2, 79]. Организм отвечает на грозящую опасность массовой гибели клеток локальной защитой — самоубийством сравнительно небольшого числа клеток, чтобы последствия патологических воздействий оказались не так велики.

Как уже отмечалось, морфологически и микроскопически апоптоз являются апоптозные тельца и сморщенные нуклеолы с целостной мембраной. Биохимическим маркером, который структурно идентичен понятию «апоптоз», считают ДНК-фрагментацию [2, 56, 66, 77]. Этот процесс активируется ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} , а ингибируется ионами Zn^{2+} . Расщепление ДНК происходит в результате действия кальций-магний-зависимой эндонуклеазы. Исследования А.Н. Villie [81] и С. Waters [79] показали, что эндонуклеазы расщепляют ДНК между белками гистонами, высвобождая фрагменты регулярной длины. ДНК первоначально делится на большие фрагменты из 50 и 300 тысяч оснований, которые затем расщепляются на составные части из 180 тысяч оснований, образующие характерную «лестницу» при сепарации гелевым электрофорезом [56, 66]. Однако L.D. Tomei с соавт. [78] и D. Hoesly с соавт. [36] пришли к выводу о том, что ДНК-фрагментация не всегда коррелирует с характерной для апоптоза морфологией и является условным маркером, неэквивалентным морфологическим критериям. Наиболее совершенным для подтверждения апоптоза является биологически-гистохимический метод, позволяющий не только зафиксировать факт ДНК-фрагментации, но и наличие важного морфологического признака — апоптозных телец [27].

Апоптоз является активным процессом саморазрушения клетки, требующим белкового синтеза [1, 24, 59]. Это подтверждено *in vivo* в опытах по предупреждению смерти нейронов с помощью ингибиторов белкового синтеза [24]. K. Goto с соавт. [30] установили благоприятный эффект инфузии ингибитора протеинового синтеза циклогексимида на выживаемость чувствительных нейронов CA_1 зоны гиппокампа после преходящей ишемии мозга крыс. В то же время существуют данные о том, что апоптоз может проходить и в отсутствие синтеза протеинов *de novo* [79].

Программа апоптоза состоит из 3 последовательных этапов:

- принятие решения о смерти или выживании;
- осуществление механизма уничтожения;
- элиминация погибших клеток (деградация клеточных компонентов и их фагоцитоз).

Генетические и молекулярные механизмы апоптоза интенсивно изучают с 80-х годов. Первые исследования, проведенные на нематодных червях *Caenorhabditis elegans* [26, 35, 85], свидетельствовали о том, что из 1090 клеток, которые образуются в организме червя, 131 предназначена на смерть. Мутации в ДНК нематоды позволили создать 2 интересных для исследователей фенотипа: при первом — все умирающие в норме клетки выживают, что формирует гигантских нематод; при втором — образуются нематоды малого размера с общим числом клеток менее 959. Оказалось, что данные фенотипы являются результатом мутаций в генах *ced*-семейства, экспрессия которых вызывает синтез протеинов, определяющих выживание или смерть клеток. Белковые продукты двух из этих генов, *ced-3* и *ced-4*, названных «генами-убийцами», необходимы для реализации программы апоптоза, потеря их функций вызывает формирование первого фенотипа нематод. Белковый продукт гена *ced-9* защищает клетки и препятствует апоптозу, предотвращая возбуждение генов *ced-3* и *ced-4*. Остальные гены семейства *ced* кодируют протеины, вовлеченные в путь, который приводит к фагоцитозу умирающих клеток, один из них (ген *lis-1*) кодирует нуклеазу, вызывающую деградацию ДНК умершей клетки.

Большой интерес вызывают исследования, направленные на поиск гомологов *ced*-генов у млекопитающих. Такими гомологами гена-убийцы *ced-3* (и его белковых продуктов) являются гены, кодирующие ИЛ-1 β -превращающие ферменты — каспазы (цистеин-овые аспартил-протеазы), которые обладают различной субстратной и ингибирующей специфичностью. Роль каспаз в механизме апоптоза подтверждена рядом экспериментальных исследований [23, 73].

Связь процессов апоптоза с основным триггером воспалительных реакций — ИЛ-1 β чрезвычайно важна. Она свидетельствует о единой индукции отдаленных последствий ишемии, а также о том, что запрограммированная смерть клеток находится в тесной зависимости от локальной воспалительной реакции в ишемической области мозга и процессов некроза.

В результате экспериментов был найден вирусный ингибитор каспаз — белок вируса ветряной оспы (СпА), предотвращающий преждевременную смерть нейронов в культуре клеток, лишенной трофического обеспечения. При острой церебральной ишемии у мышей с генетически инактивированной каспазой-1 выраженность ишемического повреждения ткани мозга и поведенческих нарушений была достоверно менее представлена, чем у контрольных животных. Эти результаты подтверждены параллельными исследованиями *in vitro*, показавшими, что изолированные нейроны мышей с инактивированной каспазой-1 были устойчивы к апоптозу, вызванному удалением трофических факторов. Эксперименты с инактивацией каспазы-3 позволили создать мышей с увеличенным мозгом [79]. Таким образом, современные исследования продемонстрировали активирующее влияние представителей семейства каспаз на процессы апоптоза как в период развития, так и при повреждающем действии на мозг.

Неактивные предшественники каспаз — прокаспазы присутствуют во всех клетках. Активация прокаспаз у млекопитающих осуществляется аналогом *ced-4* гена — возбуждающим фактором апоптозной протеазы-1 (*Apaf-1*). Интересно, что *Apaf-1* имеет место связывания для АТФ, что под-

черкивает значимость уровня энергетического обеспечения для выбора механизма смерти (энергетически зависящего апоптоза или энергетически независимого некроза). При возбуждении каспазы модифицируют активность клеточных белков (полимераз, эндонуклеаз, компонентов ядерной мембраны), ответственных за фрагментацию ДНК в апоптотических клетках. Активированные ферменты вызывают разрушение цитоплазматических белков, начинают расщепление ДНК, что приводит к появлению в местах разрывов трифосфонуклеотидов. Клетка теряет воду и уменьшается в размерах, снижается рН цитоплазмы. Клеточная мембрана утрачивает свои свойства, клетка сморщивается, образуются апоптотические тельца. В основе процесса перестройки клеточных мембран лежит активация сфингомиелазы, которая расщепляет сфингомиелин клетки с высвобождением керамида, активирующего фосфолипазу A_2 . Происходит накопление продуктов арахидоновой кислоты. Экспрессированные в ходе апоптоза белки фосфатидилсерин и витронектин выходят на поверхность клетки и сигнализируют макрофагам, осуществляющим фагоцитоз апоптотических тел.

Гомологами гена нематоды *ced-9*, определяющего выживание клеток, у млекопитающих является семейство протоонкогенов *bcl-2*. Гены *bcl-2* изначально были выявлены в В-клеточной лимфоме, где их не регулируемая выработка блокировала механизмы клеточной смерти, что тем самым поддерживало онкогенез. И *Bcl-2*, и родственный ему протектин *bcl-x-1* представлены в мозге млекопитающих. Они защищают нейроны от апоптоза при ишемическом воздействии, удалении факторов роста, влиянии нейротоксинов в условиях *in vivo* и *in vitro*. Анализ продуктов экспрессии *bcl-2* генов выявил целое семейство *bcl-2*-родственных генов, включающее как антиапоптотические (*Bcl-2* и *Bcl-x-1*), так и проапоптотические (*Bcl-x-s*, *Bax*, *Bad*, *Bag*) протеины [64]. Протеины *Bax* и *Bag* обладают гомологичной последовательностью и формируют гетеродимеры *Bax* и *Bcl-x-1* *in vitro*. Для активности, подавляющей смерть, *Bcl-2* и *Bcl-x-1* должны сформировать димеры с протеином *Bax*, в то время как димеры с протеином *Bad* усиливают смерть. Это позволило сделать вывод о том, что *Bcl-2* и родственные молекулы являются ключевыми компонентами клеточного выживания или клеточной смерти в центральных нервной системе.

Определенные протеины, такие как *P53*, *P21 (WAF1)*, могут способствовать развитию апоптоза [17, 71]. Было показано, что природный *P53* вызывает апоптоз в опухолевых клеточных линиях [83] и *in vivo* [72]. Трансформация *P53* из природного типа в мутантную форму приводит к развитию рака во многих случаях за счет подавления процессов апоптоза.

В настоящее время активно изучается роль апоптоза в смерти нейронов и формировании инфарктных изменений при острой ишемии мозга [56, 67].

При ишемии морфологические признаки апоптоза можно найти как в нейронах, так и в глиальных клетках [50, 56]. В моделях глобальной ишемии [69] установлено преимущественное поражение апоптозом олигодендроцитов.

При фокальной ишемии мозга большинство апоптотических клеток определяются вдоль внутренней границы ишемического ядра [10, 11, 48, 50, 71], что, возможно, отражает участие апоптотического процесса в расширении зоны инфаркта. Количество апоптотических клеток возрастает в зависимости от продолжительности фокальной ишемии мозга.

По данным М. Шорр и Y. Li [17], спустя 2 ч после постоянной окклюзии средней мозговой артерии и через 24 ч от начала реперфузии в ишемизированном стриатуме находят клетки, подвергшиеся апоптозу, среди кото-

рых 90—95 % нейронов, около 5—10 % астроцитов и не более 1 % эндотелиальных клеток. Количество апоптотных клеток увеличивалось максимально через 24—48 ч после индуцированной ишемии, впоследствии имело тенденцию к снижению, однако оставалось достоверно повышенным, по сравнению с контрольными животными, около 4 нед после окклюзии. Длительное функционирование апоптоза дополнительно подтверждает динамический характер процесса клеточного умирания и свидетельствует о том, что мероприятия, проводимые даже недели спустя от начала ишемического инсульта, могут заприщивать ишемизированную ткань мозга.

Феномен ДНК-фрагментации в нейронах, подвергшихся транзиторной глобальной ишемии, продемонстрирован в целой серии работ [6, 42, 56, 77, 80]. Большие дозы нейротрофина *BDNF* спасали нейроны CA₁ зоны гиппокампа от апоптотного повреждения при ишемии [6].

Во многих случаях наряду с признаками апоптоза в клетках обнаруживают дополнительные признаки некроза [55, 59]. Подобная смешанная морфология повреждения с обнаружением фрагментированной интрануклеосомальной ДНК была выявлена и в некротизирующихся клетках [49]. Это позволило ряду исследователей усомниться в участии апоптоза в клеточной смерти при ишемии. Вместе с тем D.W. Choi [16], J. Martin с соавт. [59], J.M. Lee с соавт. [49] пришли к выводу о том, что запрограммированная клеточная смерть и механизмы некроза, «связанные с глутаматной «эксайтотоксичностью», «запускаются» в ишемизированном мозге параллельно, поэтому сочетание их морфологических признаков и биохимических маркеров вполне предсказуемо.

Выявлена прямая связь экспрессии генов раннего реагирования *fos*, *c-jun*, *mip-1* и синтеза стресс-белков (*Hsp72*) с индукцией механизмов апоптоза [80]. В условиях *in vitro* было показано, что микроинъекция антител к белкам семейства *Fos* и *c-Jun* может «отсрочить» апоптоз.

J. Chen с соавт. [12] обнаружили увеличение экспрессии *bcl-2* генов и синтеза *HSP72* в выживших по окончании фокальной ишемии нейронах. Исследование S. Iseppala с соавт. [3] подтвердило, что повышение содержания белков *Bcl-2* и *Bcl-x* регистрируется в выживших нейронах перинифарктной области, тогда как повышение концентрации белков *Bax* связано с процессом фрагментации ДНК и клеточной смертью в «ядерной» зоне инфаркта. Аналогичные результаты были получены в экспериментальной работе F. Gillardon с соавт. [28], показавших, что через 6 ч после окклюзии средней мозговой артерии достоверно увеличиваются экспрессия *Bax* мРНК и синтез белков *Bax* в тяжело ишемизированных нейронах коры переднего мозга и гиппокампа. M. Azahí с соавт. [3] определили умеренное повышение уровня транскрипции *bcl-x* генов в клетках ишемизированной ткани мозга.

Наиболее убедительным доказательством участия апоптоза в гибели клеток мозга при ишемии является протективное действие генетических или фармакологических вмешательств, направленных на его селективное торможение. Показано, что экспериментальная избыточная трансгенная экспрессия *bcl-2* [61] или же превнесение гена посредством герпес-вирусного вектора [46, 50] в равной степени уменьшают размер инфаркта мозга у мышей, подвергавшихся фокальной ишемии, а также улучшают выживаемость нейронов CA₁ зоны гиппокампа при глобальной ишемии [43]. Установлено уменьшение размеров инфаркта мозга при транзиторной фокальной ишемии у мышей, не экспрессирующих ген *bax* [49].

Установлено, что в кортикальных и стриарных нейронах уже через несколько часов после экспериментальной транзиторной ишемической атаки

происходит активация каспазы-3 — фермента, характеризующегося наибольшей гомологией с летальным геном *ced-3* *Caenorhabditis elegans* [65, 82]. При внутрижелудочковой инфузии ингибитора каспаз *z-DEVD.fmk* сокращается размер инфаркта при фокальной ишемии [33], а также количество погибших нейронов CA₁ зоны гиппокампа при транзиторной глобальной ишемии [13].

Эти данные подтверждают другие результаты, полученные *in vitro*. Показано, что культура корковых нейронов мыши, временно лишенная кислорода и глюкозы, погибает по типу «эксайтотоксического» некроза. Однако после блокады эксайтотоксичности *NMDA*- и *AMPA*/каинатными антагонистами с удлинением периода депривации (с целью преодоления терапевтического эффекта этих препаратов) нейроны подвергались апоптозу, чувствительному к действию ингибитора каспаз *z-VAD.fmk* [31]. Нейропротективное действие ингибиторов каспаз при ишемическом инсульте *in vivo* может быть частично связано с торможением ИЛ-1 β -превращающего фермента и подавлением индуцированного ИЛ-1 β воспаления [70], однако в культуре клеток его нельзя объяснить этим механизмом, поскольку при добавлении высоких концентраций ИЛ-1 нейропротективный эффект не исчезал [31].

Определено участие белков *P53* и *P21* в развитии вышеописанных изменений в нейронах CA₁ зоны гиппокампа при преходящей ишемии переднего мозга [17, 20, 75]. Оклюзия средней мозговой артерии сопровождается значительным увеличением уровня *P53* в очаге ишемии [23, 47]. Область инфаркта уменьшается у трансгенных мышей, лишенных *P53* [21], что подчеркивает его участие в процессах апоптоза при ишемическом инсульте.

Экспериментальные исследования [8, 10, 41] установили, что при параллельном включении в ишемизированном мозге процессов некроза и апоптоза выбор преобладающего механизма определяется несколькими факторами, в том числе тяжестью ишемии, зрелостью нейронов, доступностью трофического обеспечения и концентрацией свободных внутриклеточных ионов Ca^{2+} . В условиях *in vitro* низкие концентрации «эксайтотоксичных» индуцируют апоптоз нейронов, в то время как более высокие — некроз [8]. После легкой транзиторной фокальной ишемии (30-минутная окклюзия средней мозговой артерии) инфаркт развивается в редуцированном виде в течение более чем 3 сут после начала инсульта, причем морфологическое исследование нейронов и чувствительность механизмов отсроченной гибели клеток к ингибитору протеинового синтеза циклогексимида подтверждают значительную роль апоптоза [25].

Важным фактором, определяющим механизм смерти клеток при ишемии мозга, является их зрелость. При перевязке сонных артерий и гипоксии у новорожденных крыс ингибитор каспаз *BAP* уменьшал размер инфаркта мозга почти на 50 %, что свидетельствует об особом значении апоптоза в повреждении незрелой ткани [15]. Подобный вывод сделан и в исследовании J.W. McDonald с соавт. [63], которое показало, что предрасположенность культуральных нейронов к апоптозу уменьшается с созреванием их *in vitro*, при этом параллельно повышается их восприимчивость к *NMDA*-индуцированному «эксайтотоксическому» некрозу.

Огромную значимость в развитии процесса апоптоза имеет недостаточность трофического обеспечения мозга. Экспозиция кортикальных нейронов с небольшими концентрациями ионизированного кальция индуцировала морфологическое повреждение аксонов и «запускала» последующий апоптоз [32]. Экспозиция нейронов с «эксайтотоксинами» также вызывала повреждение аксонов, преимущественно в зоне центрального инфаркта.

Нейроны пенумбры продолжают противостоять глутаматному повреждению и в последующем подвергаются апоптозу в связи с тем, что лишались доставки трофических факторов через синапсы [7].

Состояние кальциевого гомеостаза в клетках, подвергающихся апоптозу, еще не совсем ясно [49]. В некоторых случаях в апоптотических клетках наблюдаются избыточные концентрации ионов Ca^{2+} , что позволило предположить их участие в индукции механизмов апоптотического каскада (например, в активации эндонуклеаз, расщепляющих ядерную ДНК) [62]. Вместе с тем, по данным R. Balazs с соавт. [4], E.M. Johnson, T.L. Deckwerth [40], P.A. Lapre с соавт. [45], апоптоз может быть приостановлен путем увеличения содержания внутриклеточных ионов Ca^{2+} с помощью активации потенциал-зависимых кальциевых каналов, ингибирования секвестрации кальция или добавления малых концентраций *NMDA* в питательную среду. Концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} , ингибирующие апоптоз в симпатических нейронах, значительно ниже (180–240 нмоль) [44] его уровней, опосредующих глутамат-кальциевую токсичность в нейронах (более 5 мкмоль) [38]. Возможно, выживание нейронов в значительной мере зависит от оптимального содержания внутриклеточных ионов Ca^{2+} [40], и на первый взгляд парадоксальная гипотеза о кальциевой нейротекции может оказаться реальной [49].

Следует отметить, что юные симпатические нейроны, сильно зависящие от трофической поддержки, имеют более низкий оптимальный уровень внутриклеточных ионов Ca^{2+} , чем зрелые симпатические нейроны, менее зависящие от трофообеспечения [52].

Таким образом, кальциевый гомеостаз является мощной модулирующей системой [44, 49]: при неадекватно низких внутриклеточных уровнях ионов Ca^{2+} нейроны подвергаются апоптозу и сильно зависят от трофического обеспечения; при нормальных — условия оптимальны для выживания клеток и их потребности в трофической поддержке минимальна; при повышенных — начинают цитотоксические процессы некроза. Логично предположить, что избыток внутриклеточных ионов Ca^{2+} участвует в повреждении клеток преимущественно в области центрального инфаркта в первые минуты после начала ишемизации, в то время как их недостаток играет отрицательную роль позже и в основном в зоне пенумбры. По-видимому, некоторые клетки проходят через обе эти стадии.

Исследования P.M. Johnson, T.L. Deckwerth [40] обнаружили, что в условиях *in vitro* при высоких концентрациях внутриклеточных ионов K^+ угнетается апоптоз. Наблюдаемый нейропротективный эффект не устраняется при блоке потенциал-зависимых кальциевых каналов и, следовательно, торможении внутриклеточного накопления ионов Ca^{2+} [84]. Это позволило авторам сделать вывод о том, что могут существовать формы апоптоза, связанные с различным усилением оттока ионов K^+ из клеток и уменьшением их внутриклеточного уровня [84]. Было показано, что введение блокатора кальциевых каналов 4-аминопиридина угнетает апоптотическое сморщивание эозинофилов человека, вызванное лишением их цитокинов [5]. Одновременно с этим *in vitro* при снижении концентрации внутриклеточных ионов K^+ ниже физиологической нормы отмечается трансформация прокаспазы-3 в ее активную форму — каспазу-3, индуцирующую процессы апоптоза, причем интенсивность реакции превращения также зависит от уровня ионов K^+ [9].

Итак, несмотря на очевидную связь между острой церебральной ишемией и некрозом, в результате морфологических и молекулярно-биологических исследований установлено участие процессов генетически детерминированной программы смерти клеток в формировании инфаркта мозга.

Механизмы апоптоза, позволяющие клеткам погибать без признаков выраженного воспаления и высвобождения генетического материала, включаются позже быстрых реакций некротических каскадов — как минимум спустя 1–2 ч после начала ишемии, начинают проявлять себя в полной мере через 12 ч, достигая максимума активности на 2–3-и сутки инсульта. Таким образом, апоптоз наряду с другими отдаленными последствиями ишемии принимает участие в «доформировании» очага инфаркта, дополнительно повреждая зону пенумбры.

Литература

1. Крыжаковский Г.Н., Луценко В.К. Успехи совр биол 1995; 115 (1): 31–49.
2. Лушинская Е.Ф., Загребин В.М. Архив патологии 1987; 2: 84–89.
3. Asahi M., Hashimaru M., Uemura Y. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1997; 17: 11–18.
4. Balazs R., Jorgens O.S., Hack N. Neurosci 1988; 27: 437–451.
5. Beauvais F., Michel L., Dubertret L. J Cell Physiol 1995; 57: 851–855.
6. Beck T., Lindholm D., Castren E., Wree A. J Cereb Blood Flow Metab 1994; 14: 689–692.
7. Bindokas V.P., Miller R.J. J Neurosci 1995; 15: 6999–7011.
8. Bonfoco E., Krunic D., Ankarcrona M. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 7162–7166.
9. Bartner C.D., Hughes F.M., Jr., Cidlowski J.A. J Biol Chem 1995; 270: 32436–32442.
10. Charriaut-Marlangue C., Margail I., Represa A. J Cereb Blood Flow Metab 1996; 16: 186–194.
11. Charriaut-Marlangue C., Margail I., Plotkine M., Ben Ari Y. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15: 385–388.
12. Chen J., Graham S.H., Chan P.H. et al. J Neurosci 1995; 15: 394–398.
13. Chen J., Nagayama T., Jin K. et al. J Neurosci 1998; 18 (13): 4914–4928.
14. Chen S. C., Soares H. D., Morgan J.I. Acta Neurol Scand 1990; 71: 433–450.
15. Cheng Y., Deshmukh M., D'Costa J. et al. J Cell Invest 1998; 101 (9): 1992–1999.
16. Choi D.W. Curr Opin Neurobiol 1997; 6: 167–172.
17. Chopp M., Li Y. Acta Neurochil 1996; 16: 21–26.
18. Chopp M., Li Y., Dereski M.O. et al. Stroke 1992; 23: 104–107.
19. Chopp M., Chan P.H., Hsu C. et al. Stroke 1996; 27 (3): 363–369.
20. Clarke A.R., Purdie C.A., Currie D.G. et al. Nature 1993; 362: 849–852.
21. Crumrine R.C., Thomas A.L., Morgan P.F. J Cereb Blood Flow Metab 1994; 14: 887–891.
22. Davies A.M. Trends Genet 1988; 4: 139–143.
23. Davies A.M. Trends Neurosci 1995; 18: 355–358.
24. Deckwerth T.L., Johnson F.M. Jr. J Cell Biol 1993; 123: 1207–1222.
25. Du C., H. R., Csernitsky C.A. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1996; 16: 195–201.
26. Ellis H.M., Horvitz R. Cell 1986; 44: 817–829.
27. Gavriell Y., Sherman Y., Ben-Sasson S.A. J Cell Biol 1992; 119: 493–501.
28. Giffard R.F., Li C., Waschke K. F. Mol Brain Res 1996; 40: 254–260.
29. Glucksmann P., Klempf N., Guan J. et al. Biochem Biophys Res Commun 1992; 182: 593–599.
30. Goto K., Ishige A., Sekiguchi K. et al. Brain Res 1990; 534: 299–302.
31. Gottron F.J., Ying H.S., Choi D.W. et al. Mol Cell Neurosci 1997; 9 (3): 159–169.
32. Guag B.J., Canzonero L.M., Sensi S.L. Neurosci 1999; 90 (4): 1339–1348.
33. Hara H., Fink K., Endres M. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1997; 17: 370–375.
34. Hara H., Friedlander R. M., Gagliardini V. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 2007–2012.
35. Hedgecock E.M., Salston J.E., Thomson J.N. Science 1983; 220: 1277–1279.
36. Hockenbery D.M. Am J Pathol 1995; 146: 16–19.
37. Hockenbery D.M., Nunez G., Millman C. Nature 1990; 348: 334–336.

38. Hyrc K., Handran S.D., Rothman S.M., Goldberg M.P. *J Neurosci* 1997; 17: 6669—6677.
39. Isenmann S., Stoll G., Schroeter M. et al. *Brain Pathol* 1998; 8 (1): 49—62.
40. Johanson E.M. Jr, Deckwerth T.L. *Annu Rev Neurosci* 1993; 16: 31—46.
41. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R. *J Cancer* 1972; 26: 239—257.
42. Kihara S., Shiraishi T., Nakagawa S. et al. *Neurosci Lett* 1994; 175: 133—136.
43. Kitagawa K., Hayashi T., Mitsumoto Y. et al. *Stroke* 1998; 29 (7): 1417—1422.
44. Kolke T., Tanaka S. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3892—3896.
45. Lampe P.A., Cornbrooks E.B., Juhasz A. et al. *J Neurobiol* 1995; 26: 205—212.
46. Lawrence M.S., Ho D.Y., Sun G.H. *J Neurosci* 1996; 16 (486): 44—96.
47. Li Y., Chopp M., Zhang Z.G. et al. *Stroke* 1994; 25: 849—856.
48. Li Y., Chopp M., Jiang N. *Stroke* 1995; 26: 1252—1258.
49. Lee J.M., Ziffel G.J., Choi D.W. *Nature* 1999; 399 (6738): 7—14.
50. Linnik M.D., Zobrist R.H., Hatfield M.D. *Stroke* 1993; 24: 2002—2008.
51. Linnik M.D., Zahos P., Geschwind M.D., Federoff H.J. *Stroke* 1995; 26: 1670—1675.
52. Lipton S.A., Kater S.B. *Trends Neurosci* 1989; 12: 265—270.
53. Lockshin R.A., Williams C.M. *J Insect Physiol* 1964; 10: 643—649.
54. Lockshin R.A., Williams C.M. *J Insect Physiol* 1965; 11: 123—133.
55. van Lookeren Campagne M., Gill R. *Neurosci Lett* 1996; 213: 111—114.
56. MacManus J.P., Linnik M.D. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 1—12.
57. MacManus J.P., Buchan A.M., Hill J.E. et al. *Neurosci Lett* 1995; 184: 89—92.
58. Majno G., Joris I. *Am J Pathol* 1995; 146: 3—15.
59. Martin D.P., Schmidt R.E., DiStefano P.S. et al. *J Cell Biol* 1998; 142: 829—844.
60. Martin L.J. et al. *Brain Res Bull* 1998; 46: 281—309.
61. Martinou J.C., Dubois-Dauphin M., Staple J. K. et al. *Neurosci* 1994; 13: 1017—1030.
62. McConkey D.J., Orrenius S. *J Leukoc Biol* 1996; 79: 761—783.
63. McDonald J.W., Behrens M.I., Chung C. et al. *Brain Res* 1997; 759: 228—232.
64. Merry D.E., Kornmeyer S.J. *Annu Rev Neurosci* 1999; 20: 245—267.
65. Namura S. et al. *J Neurosci* 1998; 18: 3659—3667.
66. Nitatori T., Sato N., Waguri S. et al. *J Neurosci* 1995; 15: 1001—1011.
67. Nawak T.S., Jr., Osborne O.C., Suga Y. *Stroke* 1993; 24: 1995—2000.
as indicators of neuronal pathophysiology after ischemia. In: *Neurobiology of ischemic Brain Damage — Progress in Brain Research*. Vol. 96 (Kogure K., Hossmann K.-A. Siesjo B.-K. eds.). Amsterdam: Elsevier Science Publishers 1993; 195—208.
68. Oppenheim R.W. *Ann Rev Neurosci* 1991; 14: 453—501.
69. Petito C.K., Olarte J.-P., Roberts B. et al. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998; 57: 231—238.
70. Rothwell N., Allan S., Bullock R. *J Clin Invest* 1997; 100: 2648—2652.
71. Sadoul R., Dubois-Dauphin M., Fernandez P.A. et al. *Adv Neurol* 1996; 71: 419—424.
72. Schmitke R.T., Marmè D. *Cancer Res* 1994; 54: 302—305.
73. Schwartz L.M., Isbarn B.A. *Immunol Today* 1993; 14: 582—590.
74. Schwab L.M., Gillies C.E. *Trends Neurosci* 1996; 19: 555—562.
75. Stabrowski P., Thompson G., Kamme P., Wieloch T. *Abstr Soc Neurosci* 1994; 20: 616.
76. Tata J.R. *Dev Biol* 1966; 13: 77—94.
77. Tobita M., Nagao I., Nakamura S. et al. *Neurosci Lett* 1995; 200: 129—132.
78. Tomei L., Caprio J.P., Cope F.O. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 853—857.
79. Waters C. *IBI Neurotransmissions*, Newsletter for Neuroscientist 1997; XIII: 2:27.
80. Wiesner C., Vogel P. et al. *Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma*. New York 1996; 1—7.
81. Wyllie A.H. *Nature* 1980; 284: 555—556.
82. Xue D., Shaham S., Horvitz H.R. *Genes Dev* 1996; 10: 1073—1082.
83. Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J. et al. *Nature* 1991; 353: 345—347.
84. Yu S.P., Yeh C.H., Senz S.L. et al. *Science* 1997; 278 (5335): 114—117.
85. Yuan J., Horvitz H.R. *Dev Biol* 1990; 138: 33—41.

Глава 11

Реакция стресс-реализующей эндокринной системы на острую церебральную ишемию

Современные молекулярные исследования свидетельствуют о том, что нейрогормональный ответ на церебральную ишемию является компонентом единой реакции нейроиммунноэндокринной системы, в которой экспрессией генов раннего реагирования, синтезом стресс-белков и гуморальных медиаторов — цитокинов (см. главы 7 и 8; рис. 8.1). Стресс-реализующая реакция обеспечивает метаболическую основу компенсаторно-адаптационных изменений, во многом определяющих исход течения заболевания [1, 3, 10], и осуществляется симпатoadреналовой, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, ренин-ангиотензиновой и глюкокортикоидной гормональными осями [21].

Результаты исследований гормонального профиля у пациентов с различными видами ургентной соматической патологии (сепсис, ожог, различные виды шока, черепно-мозговая травма) продемонстрировали независимость типов реакции эндокринной системы от причины стресса [12, 26, 31]. Изучение гормональных взаимодействий показало, что ответ симпатoadреналовой системы реализуется одновременно со стимуляцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и ренин-ангиотензиновой осей [13, 17, 20]. Ключевую роль в одновременной активации этих систем играет кортиколиберин [25], который, с одной стороны, стимулирует выработку адренокортикотропного гормона (АКТГ) в гипофизе, что приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и угнетению местного воспалительного и аутоиммунного процессов [16, 18, 31, 32], а с другой — индуцирует симпатoadреналовую активность [23, 41] и способствует чрезпочечной выработке ренина [22, 36, 43], ангиотензина-II, высвобождению катехоламинов из аксонов симпатических нейронов и вторичному повышению секреции АКТГ [7] (рис. 11.1). Это вызывает дополнительную симпатическую активацию и усиливает цитотоксический эффект катехоламинов, вызывая нарушение проницаемости клеточных мембран [1] и потенцируя развитие оксидантного стресса. Выраженная гиперкатехоламинемия усугубляет имеющуюся гипергликемию, которая в первые дни инсульта часто инсулинорезистентна, отягощает течение заболевания вследствие ухудшения газотранспортных свойств гемоглобина с нарастанием выраженности гипоксии и накопления продуктов анаэробного гликолиза [6]. Повышенное содержание ренина дополнительно активизирует экспрессию генов раннего реагирования, индуцирующих программу апоптоза [28].

Таким образом, стрессорная реакция, являясь первично адаптационной, начинает участвовать в механизмах патологического процесса; исходно компенсаторный акт становится «болезнью адаптации».

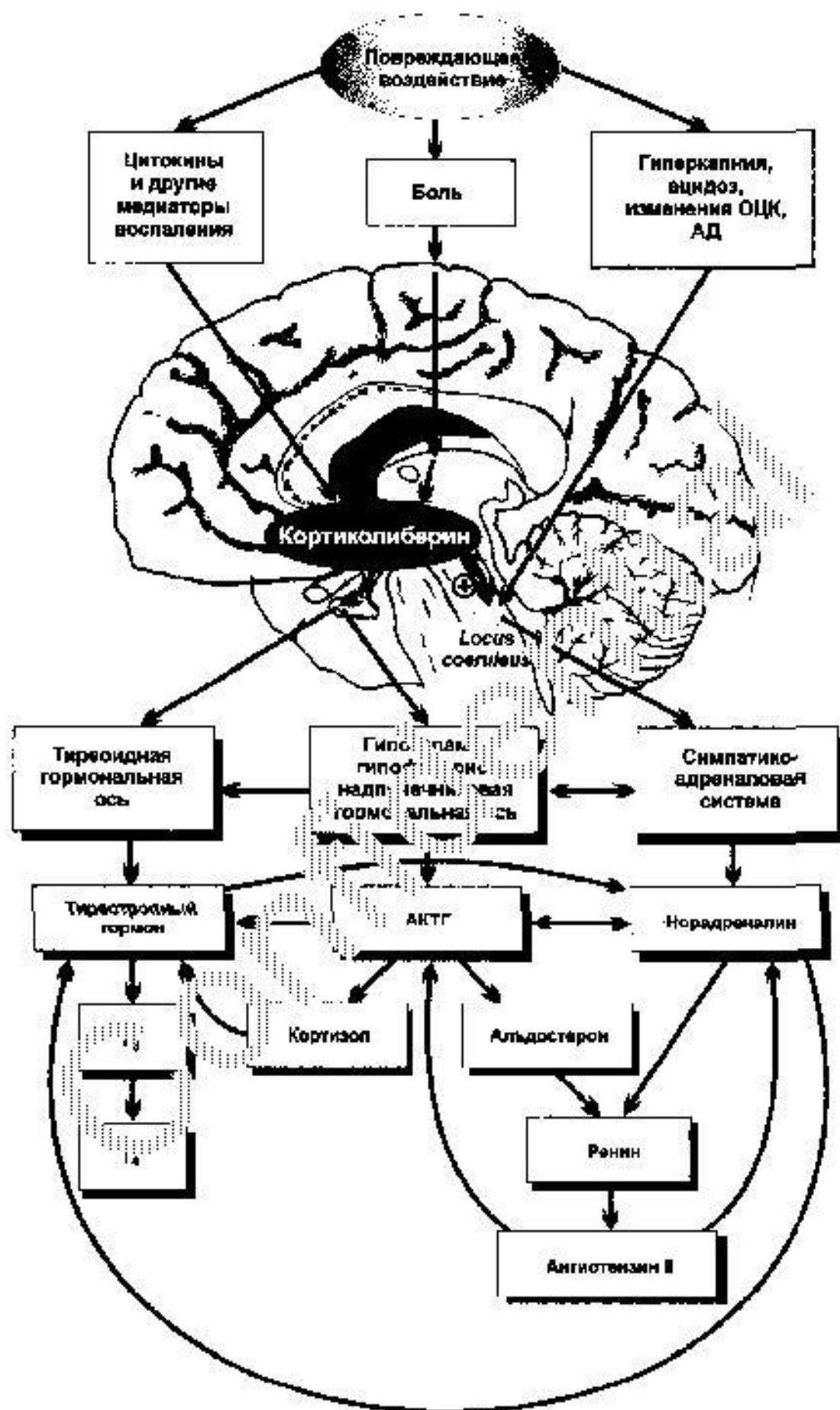


Рис. 11.1. Взаимодействие гормональных осей стресс-реализующей эндокринной системы.

Красными стрелками показаны активирующие влияния, синими — тормозящие.

R. Chioleto [20], J. Hack с соавт. [27], G.L. Wang [42] в результате экспериментальных и клинических исследований установили, что любое острое стрессовое воздействие сопровождается особым сочетанием тиреоидных показателей, характеризующимся снижением трийодтиронина (T_3) при нормальном или даже повышенном уровне тиреотропного гормона (ТТГ). Данный феномен получил название «низкий T_3 -синдром». Важную роль в его развитии играют нарушения процессов превращения тироксина (T_4) в метаболически активную форму — трийодтиронин под действием свободных радикалов и свободных жирных кислот [15, 19, 29], а также уменьшение продукции ТТГ в ответ на стимуляцию симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осей [14, 25, 43] (рис. 11.2).

Нами было исследовано содержание гормонов стресс-реализующей системы в плазме крови 25 больных с каротидным ишемическим инсультом в динамике развития заболевания на 1-е, 2-е, 3-и и 7-е сутки [8,9]. На фоне унифицированной комплексной терапии (без включения нейротропных препаратов) у больных определяли уровень ТТГ, свободного трийодтиронина (cT_3), свободного тироксина (cT_4), АКТГ и ренина ралтеким иммунологическими методами, основанными на выявлении меченных изотопом ^{125}I антител или антигенов, связывающихся с комплексами тиреоидных гормонов и участками молекулы гормона. Использовали стандартные тест-системы (*IRMA TTT CT*, Беларусь; *Immunotest*, Чехия; *ACTH-RH CIS B*, Институты, Франция).

У всех больных, начиная с 1-х суток заболевания и на протяжении всего периода исследования, зафиксировано снижение уровня cT_3 в плазме крови, более выраженное при исходно тяжелом инсульте, оцененных на момент поступления пациента в клинику по Шенс 30 баллов по Скандинавской шкале [37]; менее 40 баллов — по шкале Ортогоса [35]; менее 36 баллов — по оригинальной шкале [11] (рис. 11.3). Самый низкий уровень cT_3 был зарегистрирован у умеренно больного. Ко 2-м суткам в группе больных с инсультом средней тяжести исходно более высокий титр cT_3 значительно снижался ($p < 0,05$) и был сопоставим с его значением у тяжелобольных. Однако уже на 3-и сутки концентрация cT_3 у больных с состоянием средней тяжести становилась достоверно выше, чем у тяжелобольных ($p < 0,05$) (см. рис. 11.3). Таким образом повышение уровня cT_3 положительно коррелировало со степенью восстановления неврологических функций ($r = 0,65$).

Концентрация ТТГ оставалась в пределах нормы у всех пациентов на протяжении длительного срока иммунобиохимического мониторингирования. Вместе с тем по сравнению с исходными значениями (в 1-е сутки) на 2-е сутки инсульта во всех случаях отмечена тенденция к нарастанию ТТГ, статистически значимая только в группе тяжелобольных ($p < 0,03$) (рис. 1.4). Колебания концентрации ТТГ не сопровождались повышением уровня cT_3 и обратно коррелировали с выраженностью регресса неврологических нарушений ($r = 0,5$).

Содержание cT_4 в плазме крови также было в пределах нормы в течение первых дней инсульта, однако на 7-е сутки зарегистрировано его повышение, статистически достоверное в группе тяжелобольных ($p < 0,01$) (рис. 11.5). Нарастание уровня cT_4 независимо от тяжести инсульта прямо коррелировало с повышением концентрации ТТГ ($r = 0,68$) и обратно коррелировало с уровнем cT_3 ($r = -0,59$) и динамикой суммарного клинического балла ($r = -0,75$) (рис. 11.6). Таким образом, чем ниже уровень cT_3 при острой фокальной ишемии мозга, тем выше концентрация ТТГ и cT_4 в плазме крови и тем тяжелее течение инсульта.

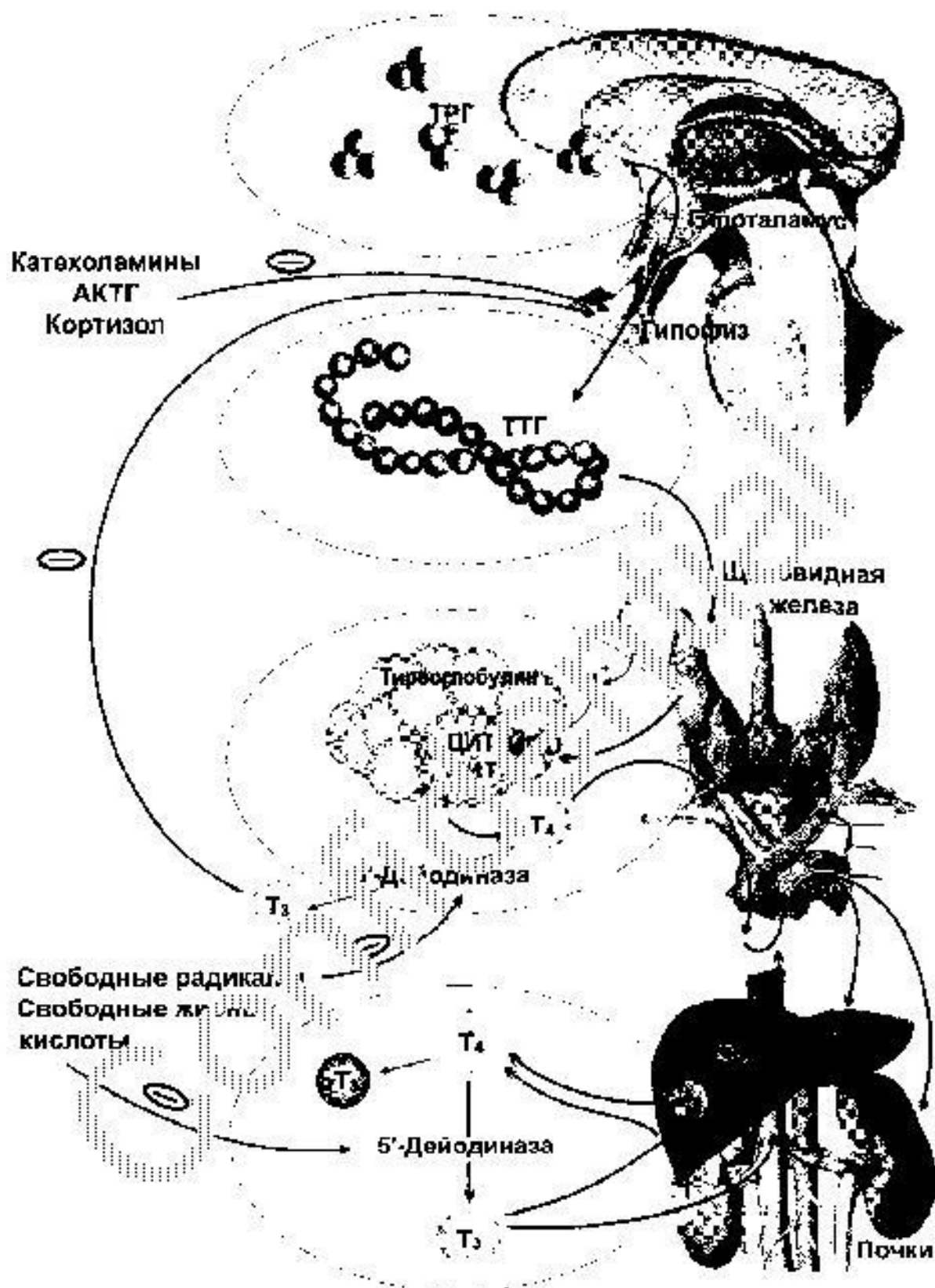


Рис. 11.2. Формированию «низкого T₃ синдрома».

В физиологических условиях единственным источником эндогенного тироксина (T₄) является щитовидная железа. Образование T₄ в щитовидной железе включает окисление поступающего в фолликул йодида (I⁻) с помощью йодидпероксидазы (ЙПО), образование неактивных предшественников T₄ — минойотирозина (МИТ) и дийодитирозина (ДИТ), их последующую конденсацию и высвобождение в кровь при помощи тиреосидной протеазы (ТП).

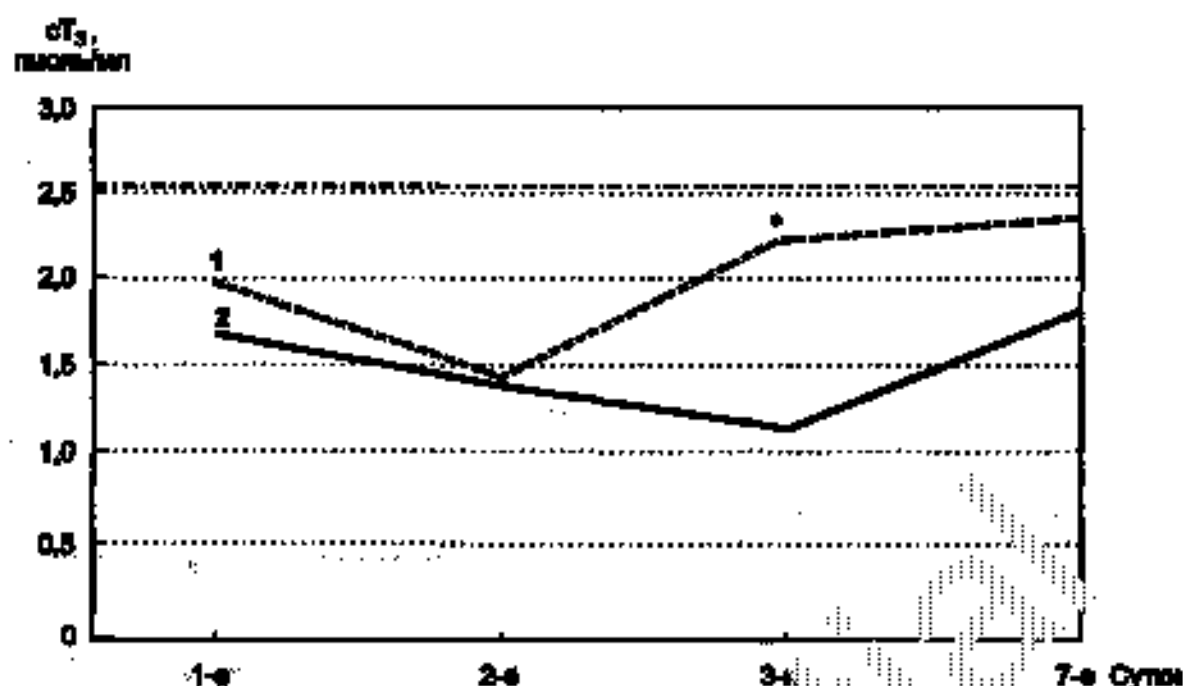


Рис. 11.3. Динамика плазменного уровня сТ₃ в течение 1-й недели после развития каротидного ишемического инсульта.

1 — состояние оравней тяжести; 2 — тяжелое. Штриховой линией показана нижняя граница нормы (верхняя граница — 5,8 пг/мл). * — достоверность различий между группами больных с состоянием оравней тяжести и тяжелым: * — $p < 0,05$.

Результаты экспериментальных исследований А. Voelen с соавт. [15], Р. Chan [19], Т. Huang с соавт. [29] позволяют интерпретировать выявленные при остром ишемическом инсульте нарушения тиреоидного метаболизма как результат замедления процессов дейодинации Т₄ и торможения превращения его в метаболически активную форму — Т₃ в условиях высоких концентраций свободных радикалов и свободных жирных кислот. При этом блокирование превращения Т₄ в Т₃ тем больше, чем обширнее зона ишемического повреждения и, следовательно, чем более выражены процессы свободнорадикального окисления [45]. В ответ на снижение Т₃ гипофиз

В отличие от этого только 20% синтезирующегося в организме трийодтиронина (Т₃) поступает из щитовидной железы. Остальная его часть образуется во внещитовидных органах (печень, почки) посредством монодейодинирования наружного кольца Т₄ специфической 5'-дейодиназой. Одновременно около 40% Т₄ подвергается монодейодинированию в положении 5 внутреннего кольца Т₄ с образованием практически не обладающего метаболической активностью реверсивного Т₃ (rТ₃). При увеличении содержания в организме свободных радикалов и свободных жирных кислот, например в условиях фокальной ишемии, происходит ингибирование 5'-дейодиназы, что сопровождается нарушением конверсии Т₄ в Т₃ с формированием «низкого Т₃-синдрома» и снижением скорости деградации rТ₃. Наряду с этим АКТГ, кортизол и катехоламины снижают чувствительность гипофиза к стимулирующему влиянию тиреотропин-релизинг-гормона (ТРГ), что также способствует формированию «низкого Т₃-синдрома».

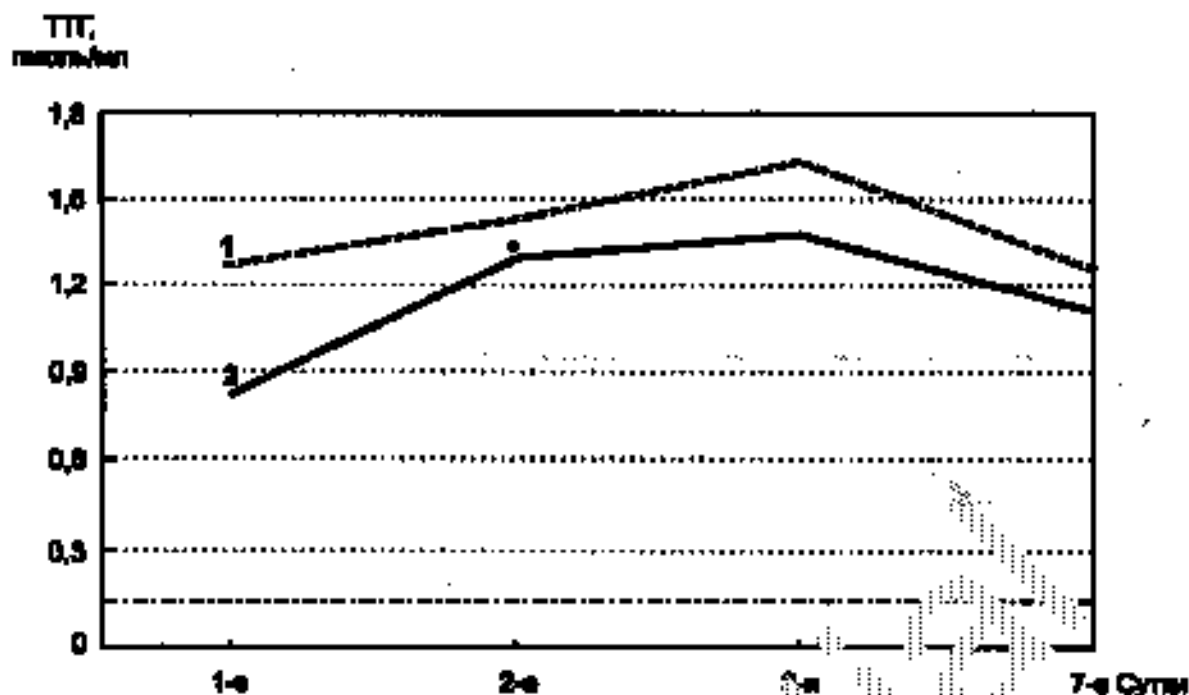


Рис. 11.4. Динамика плазменного уровня ТТГ в течение 1-й недели после развития каротидного ишемического инсульта.

1 — состояния средней тяжести; 2 — тяжелое. Штриховой линией показана нижняя граница нормы (верхняя граница — 4,05 пг/мл/мг). * — достоверность различий по сравнению с показателем в 1-е сутки * — $p < 0,03$.

вырабатывает повышенное количество ТГ, что приводит к увеличению секреции T_4 (см. рис. 11.2).

Нормальная концентрация АКТГ, наблюдаемая у всех обследованных больных в 1-е сутки инсульта, достоверно повышалась (в 35 раз) на 2-е сутки ($p < 0,04$), наиболее выражено в группе тяжелобольных. С 3-х суток у всех пациентов начиналось снижение увеличенной концентрации АКТГ, которое становилось значимым на 7-е сутки заболевания ($p < 0,05$) (рис. 11.7). При тяжелых формах инсульта снижение АКТГ было представлено в меньшей степени ($r = -0,77$ с восстановлением неврологических функций) и на 7-е сутки заболевания уровень этого гормона был выше, чем при инсультах средней тяжести.

Интересен тот факт, что изменения концентрации АКТГ тесно коррелировали ($r = 0,87$) с колебаниями уровня ТТГ (рис. 11.8), и содержание обоих гормонов находилось в прямой корреляционной связи с тяжестью состояния пациента на момент исследования плазмы ($r = 0,8$ и $0,65$ соответственно). С учетом данных Н.Г. Крачеквич, Р.Н. Протас [5], А.А. Шутова, А.А. Чудинова [11], М. Ziegler с соавт. [45] о том, что выраженность реакций оксидантного стресса определяет степень активации гипоталамо-гипофизарной системы, представляется закономерной зависимость концентраций гипоталамических гормонов от тяжести ишемического поражения.

Концентрация ренина в плазме крови больных с ишемическим инсультом оставалась в пределах нормы на протяжении всего периода наблюдения, лишь к 7-м суткам зафиксирована некоторая тенденция к ее увеличению, но уровень ренина не превышал верхней границы нормы.

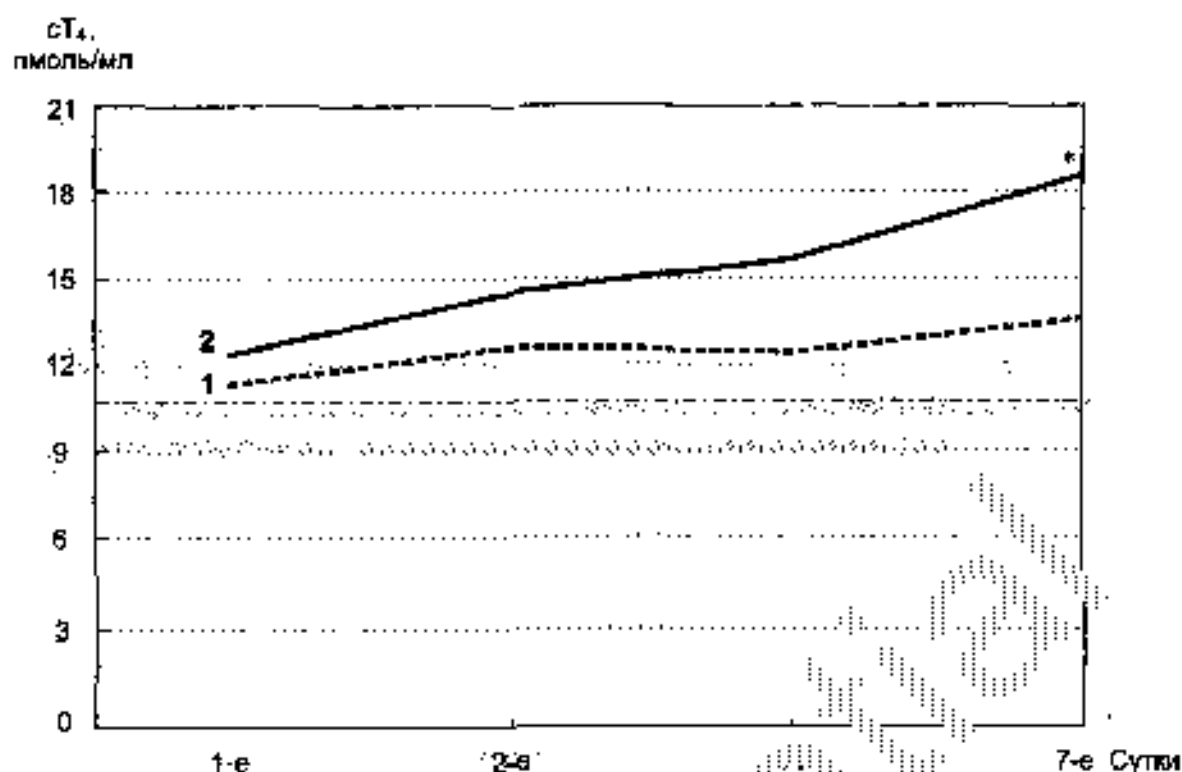


Рис. 11.5. Динамика плазменного уровня сТ₄ в течение 1-й недели после развития каротидного ишемического инсульта.

1 — состояние средней тяжести; 2 — тяжелое. При активной линией показана нижняя граница нормы (верхняя граница — 23,5 пмоль/мл). Достоверность различий по сравнению с показателем в 1-е сутки; * — $p < 0,01$.

Не было выявлено достоверных различий в уровне определяемых гормонов при право- и левополушарной локализации очага ишемии, а также при ограниченных корковых (до 5 см²), распространенных корково-подкорковых (более 25 см²) инфарктах и изолированных поражениях белого вещества (до 15 см²).

В результате углубленного иммунобиохимического анализа установлено, что для больных с хорошим восстановлением неврологических



Рис. 11.6. Корреляционные зависимости между динамикой тиреоидных гормонов и приростом суммарного клинического балла (по шкале Оргогозо) в течение 1-й недели после развития каротидного ишемического инсульта.

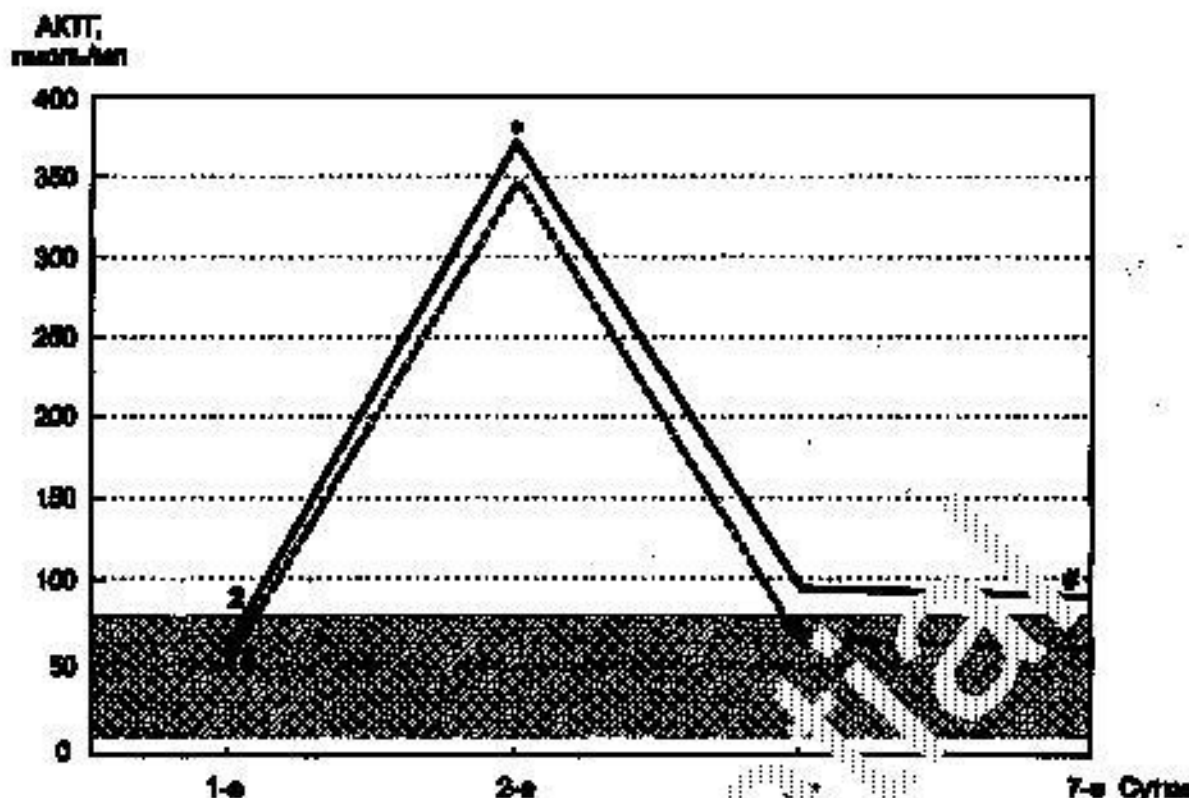


Рис. 11.7. Динамика плазменного уровня АКТГ в течение первой недели каротидного ишемического инсульта.

1 — состояние средней тяжести; 2 — тяжелое; 3 — критическое; 4 — летальный исход; 5 — группа сравнения — норма. Достоверность различий по сравнению с показателем на 1-е сутки: * — $p < 0,03$; достоверность различий по сравнению с показателем на 2-е сутки: # — $p < 0,05$.

функций к концу острого периода инсульта (на 21-е сутки индекс Бартела 75–100) характерны достоверно более высокий уровень cT_3 на 3-и сутки заболевания ($p < 0,04$) и более низкая концентрация cT_4 и АКТГ — на 7-е сутки ($p < 0,03$ и $p < 0,05$ соответственно) по сравнению с группой инвалидизированных больных (индекс Бартела 0–70) (рис. 11.9). Концентрация ренина в течение первых дней инсульта была более низкой у больных с хорошим исходом заболевания; достоверные различия с группой инвалидизированных пациентов отмечали на 2-е сутки ($p < 0,01$).

Тесная корреляция плазменных уровней cT_3 , cT_4 , АКТГ и ренина с выраженностью течения неврологических симптомов и восстановлением нарушенных функций, отмечающаяся на протяжении всего острого периода инсульта, позволяет использовать эти показатели для прогнозирования течения и исхода заболевания. Наиболее значимым прогностическим кри-

Рис. 11.9. Ретроспективный анализ уровня гормонов стресс-реализующей эндокринной системы в зависимости от исхода инсульта.

I — содержание АКТГ на 7-е сутки после развития каротидного ишемического инсульта; II — уровень cT_4 на 7-е сутки; III — концентрация cT_3 на 3-и сутки; IV — содержание активного ренина плазмы на 2-е сутки. Достоверность различий с группой инвалидизированных больных: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,04$, *** — $p < 0,03$, **** — $p < 0,01$.

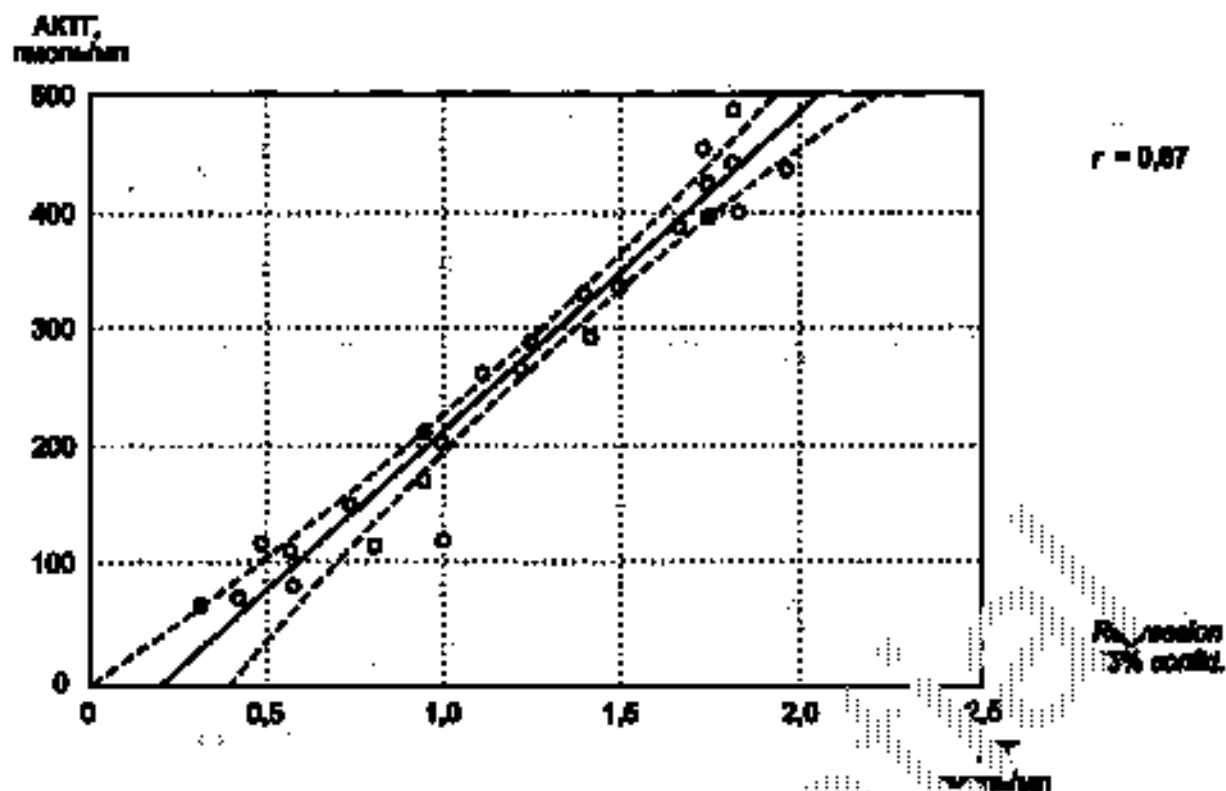
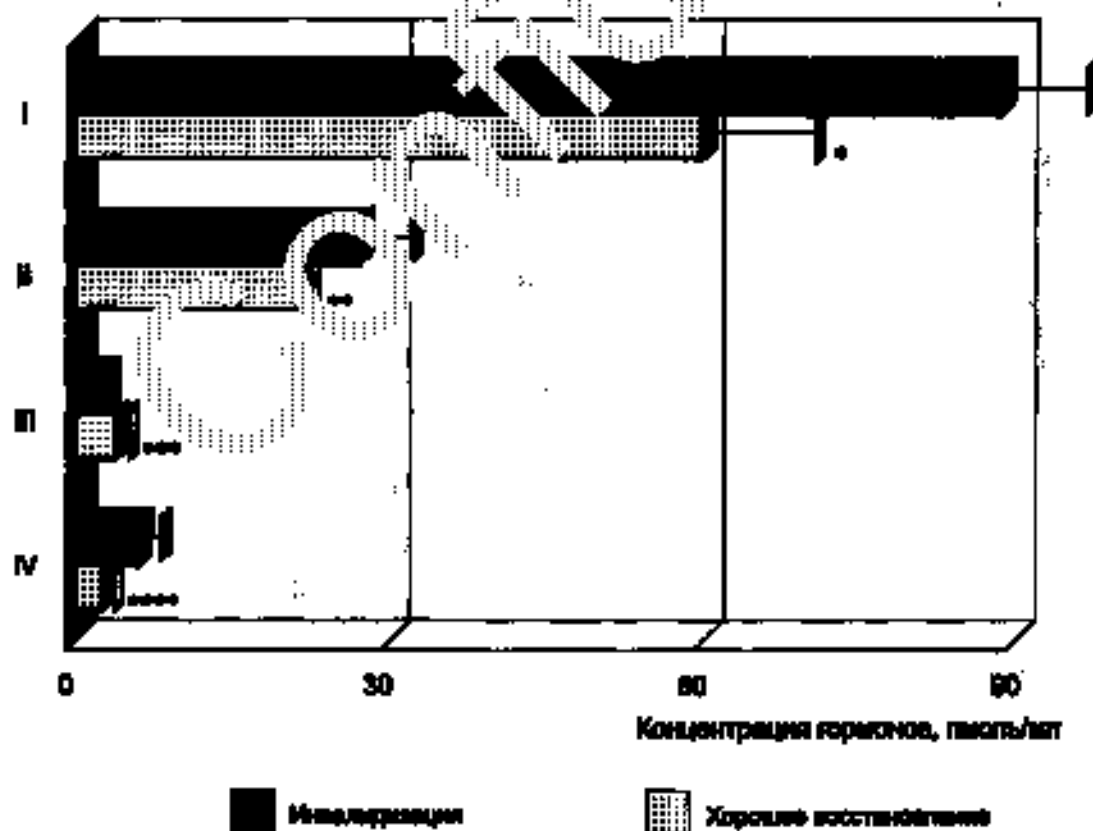


Рис. 11.В. Корреляционная зависимость между содержанием АКПГ и ТТГ в плазме крови больных с каротидным ишемическим инсультом.



терием хорошего восстановления является высокий уровень сТ₃, участие которого в репаративных процессах после ишемического повреждения ткани мозга может быть обусловлено нейротрансмиттерными механизмами его действия [30, 33].

Таким образом, как и при ургентной соматической патологии [4, 21, 34, 38—40], при острой фокальной ишемии мозга развивается стереотипная реакция стрессо-реализующей эндокринной системы в виде активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и ренин-ангиотензиновой осей и изменения тиреоидного метаболизма с формированием «низкого Т₃-синдрома». Выраженность стрессорных нейрогормональных перестроек отражает тяжесть церебральной ишемии, влияет на течение острого периода инсульта и имеет прогностическое значение.

Литература

1. Бурд Г.С. Дыхательная недостаточность у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1983, 357.
2. Гусев Е.И., Скорцова В.И. Карта обследования и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990.
3. Калинин А.А., Наретин В.Я., Котов С.В. Журн невропат. и психиатр 1991; 91: 134.
4. Крачкович Н.Г., Протас Р.Н. Журн вопр нейрохир 1980; 3: 511—522.
5. Крачкович Н.Г., Протас Р.Н. Журн вопр нейрохир 1986; 3: 305—38.
6. Кузин В.М. Ишемический инсульт. Клинико-патогенетические аспекты и дифференцированное лечение: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1989.
7. Липинский П.Ф. Патофизиология. — М.: Медицина, 1995; 490—495.
8. Скорцова В.И., Островерхов И.В., Протас Р.Н., Ефремова Н.М. Лабораторная диагностика изменения содержания гормонов стресс-реализующей эндокринной системы у больных в остром периоде ишемического инсульта. — В кн.: Биомедицинский 2000, труды конференции. — М., 2000; 1: 239—241.
9. Скорцова В.И., Платонов И.А., Островерхов И.В. и др. Журн неврол. и психиатр 2000; 4: 22—27.
10. Чихачевский П.Ш., Антонов Н., Савицкий И.Т. Высшее заседание президиума правлений Всероссийского научного общества терапевтов, кардиологов, невропатологов. Гипертоническая болезнь и сосудистые заболевания мозга. — Пермь, 1990; 207.
11. Шумова А.А., Чухомов А.А. Журн вопр нейрохир 1987; 3: 7—10.
12. Aron R., Ghust L., Durrant J., Comstock J.P. Clin Biochem 1997; 30 (5): 419—424.
13. Barton L. J Clin Endocrinol Metab 1987; 1: 355—374.
14. Boock R.J., Rowlands E., Chakraborty H.E. et al. Neuroendocrinology 1994; 53 (4): 360—364.
15. Boelen L. et al. J Clin Endocrinol Metab 1993; 77(6): 1695—1699.
16. Brunetti L. et al. Ter 1994; 144(2): 147—153.
17. Calogero A., Gallucci W., Chrousos G. et al. J Clin Invest 1988; 82: 839—846.
18. Catalina A., Lipton J.M. Ann NY Acad Sci 1998; 856: 62—68.
19. Chan P. Neurotrauma 1992; 9: 417—423.
20. Chioleri R. New Horizons 1994; 2 (4): 432—442.
21. Chioleri R., Lemarchand-Beraud T., Schut. Y. et al. J Trauma 1988; 28: 1368—1374.
22. Clifton G., Ziegler M., Groesman R. J Neurosurg 1981; 8: 10—14.
23. Delgado R., Carlin A., Airaghi L. et al. J Leukoc Biol 1998; 63 (6): 740—745.
24. Faber J., Kirkpatrick C., Ramussen B. et al. J Clin Endocrinol Metab 1987; 65(2): 315—320.
25. Filcher L., Brown M. J Clin Endocrinol Metab 1991; 5: 35—50.

26. *Fliers E. et al. J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 (12): 4032—4036.
27. *Hack J., Gottardis M., Wiesner C. et al. Intensive Care Med* 1991; 17: 25—29.
28. *Huang C., Jeffrey J.J. Mol Cell Endocrinol* 1998; 139 (1—2): 79—87.
29. *Huang T., Beado R., Chopra I., et al. J Endocrinol* 1987; 121: 498—503.
30. *Intiguez M.A., De Laca L. et al. Endocrinol* 1996; 137 (3): 1032—1041.
31. *Lipton J.M., Catantina A., Delgado R. Ann NY Acad Sci* 1998; 840: 373—380.
32. *Lipton J.M., Catantina A., Delgado R. Neuroimmunomodulation* 1998; 5 (3—4): 178—183.
33. *Martin J.V., Williams D.B., Fitzgerald R.M. et al. Neurosci* 1996; 73: 705—713.
34. *McLarty D., Ratcliffe W., McColl K. et al. Lancet* 1975; ii: 275—276.
35. *Orgogozo J.M., Darigues J.F. Clinical trials in acute brain infarction: The question of assessment criteria. In: Acute Brain Ischemia: Medical and Surgical Therapy (Battistini N., Courbier R., Fieschi C., Florani P., Flum F. eds): New York, Raven Press 1986, 282—289.*
36. *Roemer M., Newsome H., Becker D. J Neurosurg* 1984; 61: 76—86.
37. *Scandinavian Stroke Study Group. Stroke* 1985; 16: 885—890.
38. *Slag M.F., Morly J.E., Elton M.K. et al. JAMA* 1961; 245: 43—45.
39. *Song Y.M., Ho W.M., Tsou C.T. et al. Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 1991; 47 (4): 242—248.
40. *Spratt D., Cox P., Gray J. et al. J Clin Care Metab* 1993; 76: 1548—1552.
41. *Vale W., Spleen J., Rivier C. et al. Science* 1981; 213: 1394—1397.
42. *Wang G.L. J Clin Med* 1991; 104: 764.
43. *Woolf P. Crit Care Med* 1992; 20: 216—226.
44. *Woolf P., Harnffel R., Lee L. et al. J Neurosurg* 1987; 66: 775—779.
45. *Ziegler M., Morrissey E., Marshall L. Crit Care Med* 1990; 18: 253—258.

данным Z. Kokaia с соавт. [30], степень увеличения синтеза *BDNF* коррелировала с экспрессией гена раннего реагирования *c-fos*. Однако, если содержание *BDNF* повышалось только в области, окружающей ишемизированную ткань, экспрессия *c-fos* была обнаружена и в «ядерной» зоне ишемии. Активация синтеза *BDNF* подавлялась гипергликемией и гиперкальцием [61].

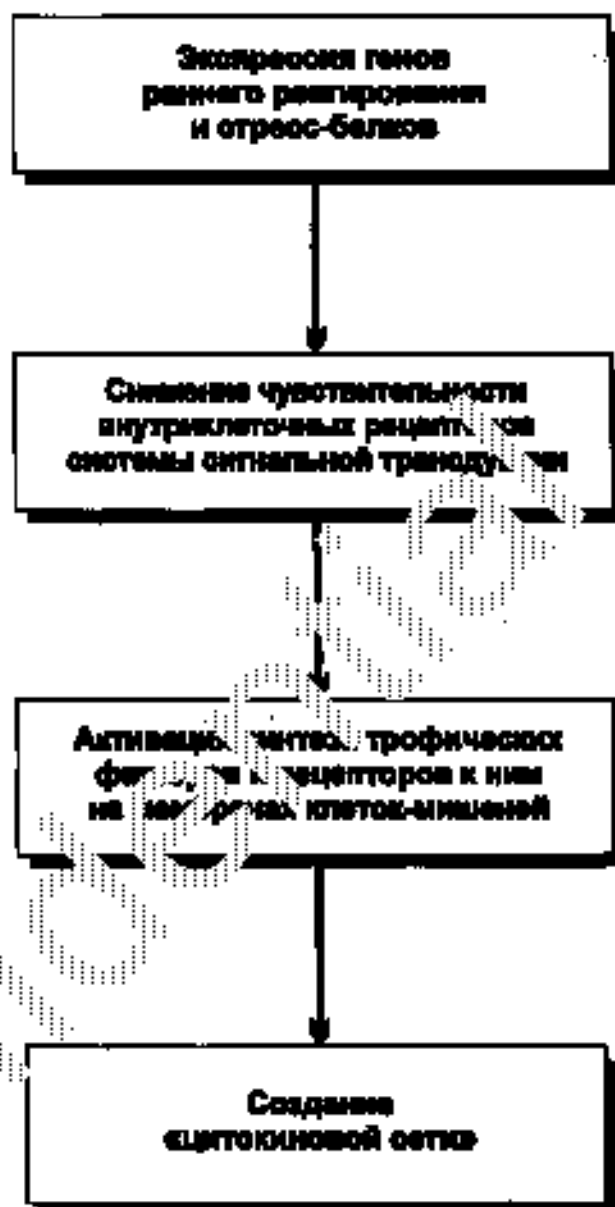
Наши клинические исследования [1, 2, 49] подтвердили факт повышения концентрации *NGF* в цереброспинальной жидкости больных в первые 12 ч после развития каротидного ишемического инсульта, выраженность которого имела прогностическую значимость (см. раздел 9.1).

Доказано, что активированные астроциты и, возможно, микроглиальные клетки, находящиеся поблизости от пострадавших нейронов, поддерживают в них восстановительные процессы [29]. Так, уже через 10 мин после индукции глобальной церебральной ишемии зафиксирован синтез основного фактора роста (фактор роста фибробластов (*bFGF*) и рецепторы к нему в астроцитах [54, 55] и нейронах [13], причем основными источниками трофического фактора являются глиальные клетки. При экспериментальном инсульте накопление *bFGF* происходило преимущественно в реактивных астроцитах [15] и лишь при отдалении от центра ишемии выявлено в нейронах [33].

При субкортикальной фокальной ишемии мозга зарегистрирована индукция сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGF*) в нейронах, астроцитах, микроглиальных и эндотелиальных клетках, максимальная по выраженности через 18 ч после развития инсульта и сохраняющаяся на протяжении 2 нед [31]. При преходящей фокальной ишемии отмечено раннее повышение синтеза *VEGF* (с максимумом через 13 ч от начала рециркуляции) с последующей его нормализацией к концу 1-х суток [20].

В течение первых дней экспериментального инсульта установлены увеличенная продукция инсулин-зависимого фактора роста II (*IGF-II*) и рецепторов к нему в нейронах ишемизированной области мозга, в том числе в «ядерной» зоне [48], и повышенный уровень инсулин-зависимого фактора роста I (*IGF-I*), который коррелировал с выраженностью реактивного глиоза [17, 34].

Схема 12.1. Этапы «включения» постишемических репаративных процессов



В процессах постишемического восстановления принимают участие и гены, экспрессия которых вызывает синтез ростовых фосфопротеинов (например, *GAP-43*) [48, 53]. Доказано, что повышенная продукция *GAP-43*, тесно связанного с процессами пластичности ткани мозга, синаптогенезом, коррелирует с регрессом неврологических нарушений и нормализацией поведения у экспериментальных животных, перенесших инсульт [51].

Морфологическая и функциональная пластичность ишемизированной ткани мозга также определяется выработкой микротубулин-связанного протеина-2 (*MAP-2*) [12, 24, 47]. Степень постишемической экспрессии *MAP-2* в нейронах отражает их толерантность к ишемии и способность к репаративным процессам [45].

Трофические факторы наряду с аутокринной стимуляцией собственных рецепторов индуцируют дальнейшие сигнальные каскады, приводящие к синтезу регуляторных протеинов, которые предотвращают индукцию апоптоза и способствуют клеточному жизнеобеспечению.

При массивном ишемическом поражении мозга, сопровождающемся грубым энергетическим дефицитом, усиление трофического обеспечения и тканевой пластичности оказывается недостаточным для выживания поврежденных клеток.

Дополнительные средства защиты искиваются через индукцию цитокинов и других сигнальных молекул (например, интерлейкинов) с созданием так называемой цитокиновой сети [7, 10, 22, 27, 34, 39].

Установлено участие в репаративных процессах противовоспалительных цитокинов *TGF-β*, ИЛ-10 и нейромодулятор ФНО-α [9, 27, 38, 52]. Экспериментальные исследования подтверждают их экспрессию в выживших клетках зоны перекрывающейся с зоной инфаркта области экспрессия не определялась [21, 32]. В подгруппе животных с ишемией нейронов увеличение мРНК ФНО-α и *TGF-β* происходило в течение первых 2—4 ч после развития инсульта [8, 43, 58, 59]. Глиальная экспрессия была замедлена, нарастая в течение 3—5 дней заболевания [14, 27, 28, 35, 38, 60].

Работами E.N. Benveniste [7], T. Lindholm с соавт. [36], T. Mizuno с соавт. [44], S. Hu с соавт. [42], P. Lodge, S. Srinam [40] показано, что *TGF-β* подавляет экспрессию астроцитарных провоспалительных цитокинов, уменьшает пролиферацию астроцитов и микроглии и способствует высвобождению других трофических факторов. Роль ФНО-α в постишемических процессах, как указывается в главе 8, неоднозначна: наряду со стимуляцией астроцитарной и микроглиальной пролиферации и индукцией локальной воспалительной реакции этот цитокин повышает экспрессию *NGF* [16, 18, 23] и *TGF-β* [26, 42] таким образом обеспечивая нейронам трофическую поддержку при развитии воспалительного каскада.

Выявленная в эксперименте длительная продукция противовоспалительных цитокинов может, по мнению T.R. Ulich с соавт. [62], отражать их участие в модуляции глиальных и воспалительных реакций после нейронного повреждения.

В то же время клиническое исследование, проведенное нами у больных с каротидным ишемическим инсультом, позволило оценить интегративный результат разнонаправленных дегенеративно-репаративных процессов: в первые часы заболевания снижено содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, *TGF-β*) в цереброспинальной жидкости на фоне выраженного нарастания уровня провоспалительных факторов, что свидетельствует о формировании недостаточности защитных механизмов и развитии локальной воспалительной реакции в очаге ишемии (см. раздел 8.1).

Таким образом, при относительно «мягкой» степени ишемического повреждения промежуточные метаболиты мембранных фосфолипидов, действующие как вторичные мессенджеры, усиливают запрограммированные процессы реконструкции, позволяющие клетке восстанавливать ее структурную и функциональную целостность. Если степень ишемии более тяжела, то не только нейроны, но и глиальные клетки участвуют в процессах восстановления. При грубо угнетенном энергетическом метаболизме поврежденная ткань подвергается воспалительным реакциям, которые вызывают окончательную деструкцию клеточных структур [29].

Теоретически важен и сложен вопрос: что считать «критической точкой» необратимого поражения клетки?

До настоящего времени необратимость повреждения ткани мозга преимущественно связывают с аноксической деполяризацией нейрональных мембран и деструкцией клетки. В то же время исследования К. Abe с соавт. [1, 3, 5] и М. Aoki с соавт. [6] установили, что даже при кратковременной и «мягкой» церебральной ишемии возможно возникновение дисфункции челночных митохондриальных систем в нейронах. При этом митохондрии перестают получать информацию от клеточной ядра, доставляемую обычно через новосинтезированные, кодируемые в ядре протеины. Результатом является грубая недостаточность энергетического метаболизма клетки.

Учитывая, что образование цитокиновой сети как и синтез трофических факторов и фосфопротеинов, возможно лишь при способности клетки продолжать считывание информации, закодированной в ДНК, а рибосом — по-прежнему продуцировать белки, можно предположить, что «критическая точка» поражения, определяющая выбор между жизнью и смертью клетки, должна возникать раньше, чем необратимое нарушение энергетического обмена и деполяризация нейрональных мембран, т.е. судьба клетки предопределена до формирования структурных изменений, характерных для некроза.

По экспериментальным данным М. Сморр и Y. Li [11], исходя из морфологических характеристик, трудно оценить, перешла ли клетка границу необратимого повреждения или смерти. С одной стороны, и после необратимого структурного повреждения клетка может еще функционировать и быть метаболически активной, с другой — она может быть смертельно повреждена и обречена на морфологические проявления некроза или апоптоза, если считать, что смерть — это понятие функциональное.

Нейроны обладают повышенной чувствительностью к ишемии, по-видимому, первыми образуются длительно к терапии клеточную популяцию, в которой функциональное восстановление уже невозможно, а морфологических признаков смерти еще нет [41, 46]. В них отмечается подавление сигнальной трансдукции, возбуждаемой ростовыми факторами, в связи с угнетением после ишемии активности протеинкиназ или увеличением активности фосфатаз. Торможение сигналов от рецепторов ростовых факторов ведет к изменению генной экспрессии и запрограммированной смерти клетки, сопровождающейся активацией процессов, опосредованных белком P53. Кроме того, доказано, что в клеточных популяциях с повышенной чувствительностью к ишемии происходит высвобождение активированных лигандов к низкоаффинным рецепторам ростового фактора P75, структурно сходным с рецепторами ФНО- α , что может ускорять клеточную смерть по механизмам, подобным ФНО- α -опосредованной цитотоксичности: активации сфингомиелинового цикла и формирования керамида [19].

Литература

1. Сковорода В.И., Каюшкин Т.П., Стаховская Л.В. и др. Изучение аутоантител к фактору роста нервов у больных с острой и хронической ишемией головного мозга. — В кн.: Новые технологии в неврологии и нейрохирургии на рубеже тысячелетий. — Ступино, 1999; 181—182.
2. Сковорода В.И., Мисоедов Н.Ф., Каюшкин Т.П. и др. Изучение содержания фактора роста нервов и антител к нему у больных с острой церебральной ишемией. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб., 2000; 332—333.
3. Abe K., Kawagoe J., Kogure K. *Neurosci Lett* 1993; 153: 173—176.
4. Abe K., Kawagoe J., Aoki M., Kogure K. *J Cereb Blood Flow Metabol* 1993; 13: 773—780.
5. Abe K., Kawagoe J., Aoki M., Kogure K. *Mol Brain Res* 1993; 19: 69—75.
6. Aoki M., Abe K., Yoshida T. et al. *Brain Res* 1995; 669: 189—196.
7. Benveniste E.N. *Chem Immunol Basel Karger* 1992; 52: 106—153.
8. Bruce A.J., Baling W., Kindy M.S. et al. *Nat Med* 1996; 2: 788—794.
9. Buttini M., Sauter A., Boddeke H.W. *Brain Res* 1994; 25: 126—134.
10. Campos-Gonzalez R., Kindy M. *J Neurochem* 1992; 59: 1955—1961.
11. Chopp M., Li Y. *Acta Neurochir* 1996; 66: 21—26.
12. Dawson D. A., Hallenbeck J.M. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 171—174.
13. Endoh M., Pulsinelli W.A., Wagner J.A. *Mol. Brain Res* 1994; 17: 71—76.
14. Finch C.E., Laping N.J., Morgan T.E. et al. *J Cell Biochem* 1995; 53: 314—322.
15. Finklestein S.P., Apostolides P.J., Caday G. G. et al. *Brain Res* 1986; 460: 253—259.
16. Gadian R.A., Cran K.C., Otten U. *Neurosci Lett* 1990; 117: 333—340.
17. Gluckman P., Klempf N., Guan J. et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182: 593—599.
18. Goossens V., Grooten J., De Vos K., Piers W. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8115—8119.
19. Hannum Y.A., Obeid L.M., Wolff R.A. et al. *Stroke* 1992; 25: 43—64.
20. Hayashi T., Abe K., Suzuki H., Itoyama Y. *Stroke* 1997; 28: 2039—2044.
21. Henrick-Noack P., Prehn J.H. et al., Krüger T. *Stroke* 1996; 27: 1609—1615.
22. Hu B.R., Wieloch T. *J Neurochem* 1995; 65: 1357—1367.
23. Hu S., Sheng W.S., Peterson J.K., Lina L.C. *Glia* 1995; 13: 45—50.
24. Inuzuka T., Tamura A., Sato S. et al. *Stroke* 1990; 21: 917—922.
25. Jaattela M. *Lab Invest* 1991; 64: 711—742.
26. Kalthoff H., Roeder C., Brockhaus M. et al. *J Biol Chem* 1993; 268: 2762—2766.
27. Kim J.S. *J Neural Sci* 1995; 137: 69—78.
28. Klempf M., Singh S., Williams C., Nikolic K. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 182: 593—599.
29. Kogure K., Imanishi Y., Matsuo Y. et al. *Acta Neurochir* 1996; 66: 40—43.
30. Koka Z., Zhao G., Nakata M. et al. *Exp Neurol* 1995; 136: 73—88.
31. Koka Z., Ikeda K., Samoto K. et al. *Stroke* 1996; 27: 1865—1873.
32. Krupinski J., Kumar P., Kumar S. et al. *Stroke* 1996; 27: 852—857.
33. Kumon Y., Sakaki S., Kadota O. *Brain Res* 1993; 605: 169—174.
34. Lee W.H., Clemens J.A., Bondy C.A. *Mol Cell Neurosci* 1992; 3: 36—43.
35. Lehrmann E., Kiefer R., Finzen B. et al. *Exp Neurol* 1995; 131: 114—123.
36. Lindholm D., Castren E., Kelfer R. et al. *Brain Res* 1992; 117: 395—400.
37. Lindvall O., Ernfranz P., Bengtsson J. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 648—652.
38. Liu T., McDonnell P.C., Young P.R. et al. *Stroke* 1993; 24: 1746—1751.
39. Liu T., Dark R. K., McDonnell P.C. et al. *Stroke* 1994; 25: 1481—1488.
40. Lodge P.A., Sriam S. *J Leuk Biol* 1996; 60: 502—508.
41. Memezawa H., Smith M.L., Siesjo B.K. *Stroke* 1992; 23: 552—559.
42. Merrill J.E., Koyanagi Y., Zack J. *J Virol* 1992; 66: 2217—2225.
43. Minami M., Kuraishi Y., Sato M. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176: 593—598.
44. Mizuno T., Sawada M., Suzumura A., Marunouchi T. *Brain Res* 1994; 656: 141—146.

45. Okawa M., Halaby L., Pulsinelli W.A., Nowak T.S., Jr. Attenuated hsp72 and MAP2c mRNA expression in rat hippocampus in a model of induced ischemic tolerance. In: Pharmacology of Cerebral ischemia 1994. (Kriegstein, J., and Oberpichler-Schwenk, H. eds.). Germany, Stuttgart 1995; 467—472.
46. Park C.K., Nehls D.G., Graham D. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1988; 8: 757—762.
47. Pettigrew L.C., Holtz M.L., Craddock S.D. J Cereb Blood Flow Metab 1996; 16: 1189—1202.
48. Schmidt-Kastner R., Bedford A., Hakim A. Cell Tissue Res 1997; 288: 225—238.
49. Skvortsova V.I., Gusev E.I., Shershev V.Y. et al. Cerebrovasc Dis 2000; 12 (3).
50. Stephenson D.T., Rash K., Clemens J.A. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15: 1022—1031.
51. Stroemer R.P., Kent T.A., Hulsebosch C.E. Sinid 1995; 26: 2135—2144.
52. Szoflarski J., Buttrum D., Silverstein F.S. Stroke 1995; 26: 1093—1100.
53. Tagaya M., Matsuyama T., Nakamura H. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15: 1132—1136.
54. Takami K., Iwane M., Kiyota Y. et al. Exp Brain Res 1992; 90: 1—10.
55. Takami K., Kiyota Y., Iwane M. et al. Exp Brain Res 1993; 97: 185—194.
56. Takeda A., Onodera H., Yamazaki Y. et al. Brain Res 1992; 569: 177—180.
57. Takeda A., Onodera H., Sugimoto A. et al. Neuroscience 1993; 55: 75—80.
58. Taupin V., Taubman S., Serrano A. et al. J Neuroimmunol 1993; 47: 7—16.
59. Tchelinguirian J.L., Quinones J., Boass J. et al. Neuron 1993; 11: 213—222.
60. Thompson N.L., Flanders K.C., Smith J.M. et al. J Cell Biochem 1989; 41: 161—169.
61. Uchida H., Lindvall O., Stego B. K., Kokala Z. J Cereb Blood Flow Metab 1997; 17: 1303—1308.
62. Ulich T.R., Songami Y., Guo K. et al. Am J Pathol 1997; 136: 1099—1101.

Часть вторая

Нейропротективная терапия при ишемии головного мозга

Содержание

Глава 13

Современные подходы к терапии при острой фокальной ишемии головного мозга, основные стратегии нейропротекции

Современные научные и технологические достижения позволяют пересмотреть существовавшее до недавнего времени пессимистическое мнение о возможностях терапии острой фокальной ишемии головного мозга (ишемического инсульта).

Внедрение современных технологий значительно улучшило диагностику ишемического инсульта: дало возможность визуализировать не только зону структурного повреждения, но и особенности кровоснабжения и функционального состояния ткани мозга. Также объективизировать сосудистые факторы, приводящие к нарушению мозгового кровообращения.

Объединение усилий фундаментальной нейронаук и клинической неврологии способствовало раскрытию основных механизмов формирования цереброваскулярной патологии и ишемического повреждения ткани мозга.

Доказательства отсроченности необратимых повреждений мозга от момента острого нарушения мозгового кровообращения и появления первых симптомов заболевания изменили отношение к инсульту как к *неотложному состоянию*, требующему быстрой и патогенетически обоснованной медицинской помощи, желательно в течение первых 2—3 ч с момента его развития. В связи с этим особое внимание уделяется работе специализированных неврологических бригад «Скорой медицинской помощи», ответственных за максимально раннее начало лечебных мероприятий на догоспитальном этапе и быструю транспортировку больных в стационар.

Ранняя госпитализация больных с инсультом является одним из основополагающих факторов, определяющих успех лечения. Медицинских ограничений к ней нет. В качестве условных медико-социальных ограничений к госпитализации больных из дома традиционно рассматривают глубокие коматозные состояния, терминальные стадии онкологических и других хронических заболеваний, выраженные психические нарушения у лиц преклонного возраста, имевшие место до развития инсульта. Наиболее эффективное проведение интенсивной терапии инсульта обеспечивается в *специализированных палатах или блоках интенсивной терапии для больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения (Intensive Stroke Unit)* неврологических или нейрореанимационных отделений. Многочисленные мультицентровые исследования и систематические об-

зоры доказали преимущества специализированных «инсультных» подразделений перед обычными неврологическими и терапевтическими, что проявляется прежде всего достоверным снижением смертности и инвалидности больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения, а также значительным улучшением качества жизни выживших пациентов в отдаленном периоде после перенесенного инсульта [9, 29, 30]. Преимущества специализированных «инсультных» подразделений связаны с особенностями их организационной структуры, а также с высоким уровнем квалификации и мультидисциплинарным профилем сотрудников. Специализированные палаты или блоки интенсивной терапии для больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения создаются в многопрофильных скорпомощных стационарах с круглосуточным доступом к службе нейровизуализации (КТ/МРТ), лаборатории (с возможностью проведения широкого спектра исследований, в том числе определения глюкозы, электролитов, газов крови, реологических и свертывающих свойств крови), специалистам разного профиля, включая невролога (или с возможностью организации его срочной консультации). В эти специализированные «инсультные» подразделения входят круглосуточные врачебные бригады, состоящие из невролога, прошедшего подготовку по реанимации и интенсивной терапии, и кардиолога. К обязательному оснащению подразделений относят установки для мониторинга состояния за сердечно-сосудистыми функциями (пульс, ЭКГ, артериальное давление), насыщением крови кислородом, температурой тела, уровнем глюкозы в крови; за функциональным состоянием мозга [ЭЭГ с компьютеризированными методами анализа компрессированным спектральным анализом (КСА), топосективным картированием (ТСК) и тремолом локализацией источника (Loretta, Brain Loc); вызванные потенциалы мозга и др.]; ультразвуковую экстра- и транскраниальную доплерографию [38].

Чем тяжелее течение инсульта, тем более необходимой в комплексе лечебных мероприятий становится так называемая *базисная терапия*, направленная на поддержание всех жизненно важных функций организма. Именно поэтому при необходимости сбора больных для госпитализации в специализированные «инсультные» подразделения предпочтение отдается больным с нарушениями сознания от оглушения до комы I—II степени, с острыми гемодинамическими (инфаркт миокарда, расстройства сердечного ритма и проводимости), дыхательными (нарушение проходимости трахеобронхиального дерева, отек легких, тяжелая пневмония) расстройствами, пароксизмическими и стойкими нарушениями. Основными направлениями базисной терапии в остром периоде инсульта являются коррекция нарушений дыхания и сердечно-сосудистой деятельности, нормализация кислотно-основного и осмотического гомеостаза, водно-электролитного баланса, профилактика и лечение вторичной гипертензии и отека мозга, вегетативно-трофических расстройств и осложнений острого мозгового инсульта [1—5, 8, 16, 20, 21, 25, 32, 39].

Углубление наших представлений о формировании ишемического повреждения мозга видоизменило взгляды на стратегии патогенетического лечения ишемического инсульта. Анализ динамики развертывания молекулярных и биохимических механизмов, «запускаемых» острой фокальной ишемией мозга, установил четкую временную последовательность их «включения». В течение первых 3 ч с момента острого нарушения мозгового кровообращения максимально представлен энергетический дефицит в ишемизированной ткани; через 3—6 ч — глутаматная «эксайтотоксичность», нарушения калциевого гомеостаза и лактат-ацидоз, угасающие к

концу 1-х суток. Отдаленные последствия ишемии начинают проявляться на 2—3-м часу, достигают максимума через 12—36 ч (оксидантный стресс и локальное воспаление) и на 2—3-и сутки (апоптоз), но сохраняются длительно (в течение нескольких месяцев), способствуя в постинсультном периоде прогрессированию процессов атерогенеза и диффузного повреждения ткани головного мозга (энцефалопатии) (см. рис. 6.1 и 7.2). Учитывая выявленные закономерности, для систематизации сложных реакций ишемического каскада может быть предложена условная и упрощенная схема его последовательных звеньев:

- 1) снижение мозгового кровотока,
- 2) глутаматная «эксайтотоксичность»,
- 3) внутриклеточное накопление кальция,
- 4) активация внутриклеточных ферментов,
- 5) повышение синтеза *NO* и развитие оксидантного стресса,
- 6) экспрессия генов раннего реагирования,
- 7) отдаленные последствия ишемии (локальная воспалительная реакция, микроциркуляторные нарушения, повреждение ГМГ),
- 8) апоптоз.

Каждый этап ишемического каскада является потенциально мишенью для терапевтических воздействий. Чем на более раннем этапе прерывается каскад, тем больший эффект можно ожидать от терапии. Возможно выделение двух основных направлений патогенетической терапии ишемического инсульта:

- улучшение перфузии тканей мозга — реперфузия (воздействие на первый этап каскада),
- нейрорепрогективная терапия (воздействие на 2—8 этапы каскада) (рис. 13.1).

Проблема терапевтической реперфузии чрезвычайно сложна. Реперфузия при острой фокальной ишемии наиболее эффективна в первые минуты после развития инсульта. Даже спустя 5 мин после дебюта ишемии массивное возвращение крови к ишемизированную зону через включившиеся коллатерали или ретроградно перфузируемый участок артерии не приводит к полной нормализации мозгового кровотока. Возникают поэтапные нарушения перфузии церебральной ткани: в первые минуты — гиперемия (или «роскошная перфузия»), затем — постишемическая гипоперфузия, что является результатом тяжелых нарушений микроциркуляции, вызванных высвобождением из ишемизированной ткани vasoактивных и провоспалительных медиаторов (см. раздел 8.2). Чем длительнее дореперфузионный период, тем меньше шанс быстро нормализовать микроциркуляцию в ишемизированной зоне и тем выше риск дополнительного реперфузионного повреждения церебральной ткани: оксидантного, обусловленного включением кислорода в процессы свободнорадикального окисления, и осмотического, вызванного нарастанием цитотоксического отека вследствие избытка воды и осмотически активных веществ [31, 33]. По экспериментальным данным, целесообразность терапевтической реперфузии сохраняется в пределах 3—6 ч. Затем при ее применении значительно нарастает риск не только реперфузионного повреждения, но и геморрагических осложнений. Таким образом, реперфузия должна быть ранней, по возможности активной и кратковременной.

Характер реперфузионной терапии определяется патогенетическим вариантом развития инсульта. При тромботическом или эмболическом

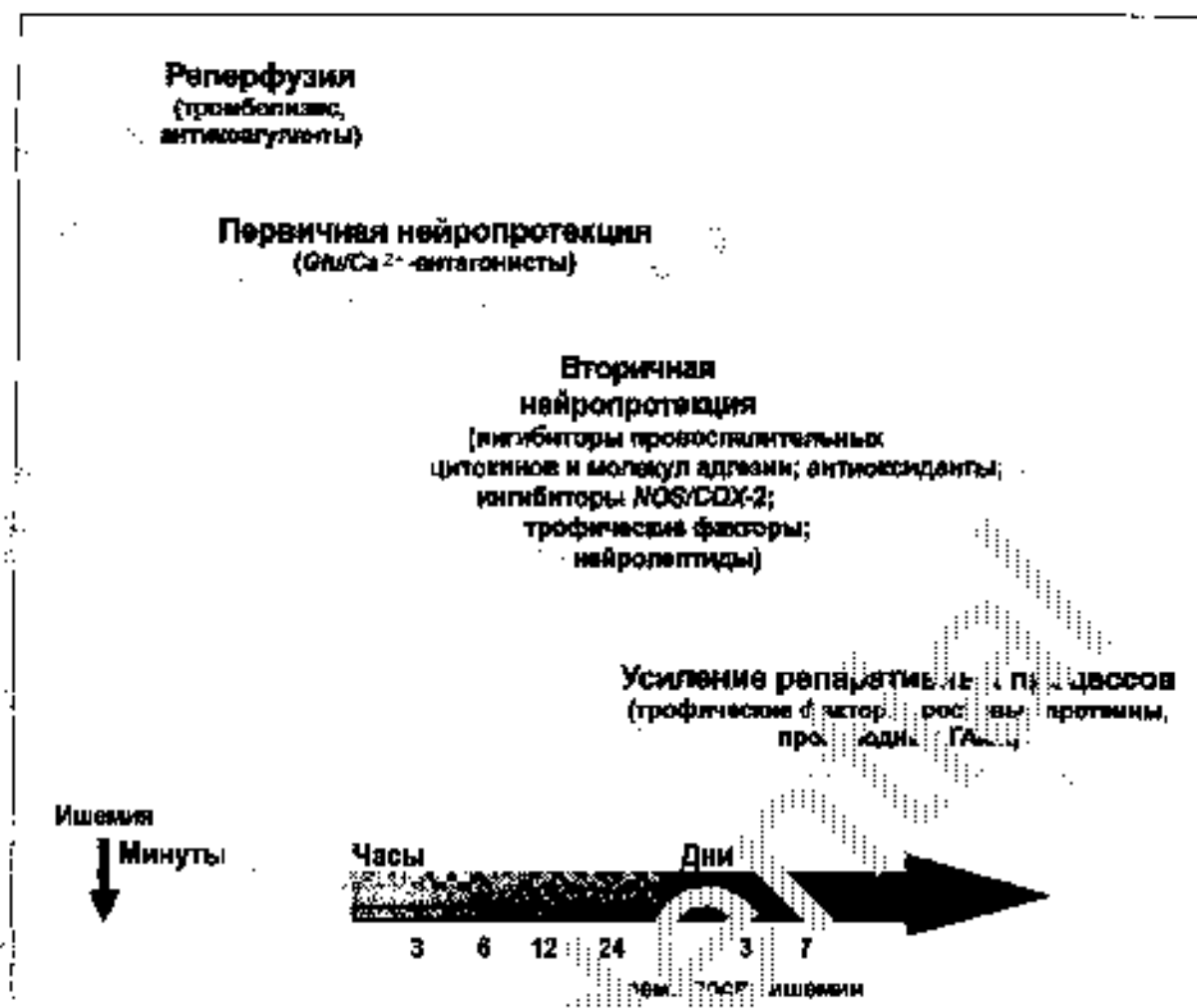


Рис. 13.1. Терапевтические подходы в остром периоде ишемического инсульта.

поражении артерий среднего и крупного калибра направленным выбором является тромболизис.

Исследование MIND [34], в котором принимали участие 624 пациента, первым доказало эффективность рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rt-PA) при его введении в первые 3 ч после развития инсульта, особенно в первые 90 мин, в дозе 0,9 мг/кг. Препарат позволял добиться достоверной реканализации пораженного сосуда. К 90-му дню у больных, леченных rt-PA, в 11–13 % случаев отмечалось высокодостоверное улучшение неврологического статуса и функционального состояния, значительно превосходявшее результаты, полученные в группе «плацебо». Однако в 6,4 % случаев в течение 36 ч от момента введения препарата возникли интрацеребральные кровоизлияния, почти в 50 % случаев смертельные, тогда как в группе «плацебо» они наблюдались в 0,6 % случаев. Несмотря на риск развития ранних геморрагических осложнений, 90-дневная летальность в группе «rt-PA» была достоверно ниже, чем в группе «плацебо»: соответственно 17 и 21 %. Позже было показано, что при очень обширной ишемизированной территории (раннее появление на КТ обширного отека или зон гиподенсивности), а также при наличии у больного сахарного диабета тромболизис не нормализует мозговой кровоток и не улучшает прогноз заболевания. Это связано с повышением риска

геморрагических осложнений и грубыми нарушениями микроциркуляции [23]. Повышение дозы тканевого активатора плазминогена до 1,1 мг/кг и введение его в более поздние сроки увеличивают риск вторичных геморрагических осложнений [7, 11, 12, 17, 24, 26—28, 37, 41]. В то же время A.J. Furlan с соавт. [22] показали, что при ангиографически подтвержденной окклюзии средней мозговой артерии интраартериальное введение рекомбинантной проурокиназы, используемое вместе с низкими дозами внутривенно вводимого гепарина, улучшало исход заболевания (в пределах 3 мес наблюдения) и при отсроченном на 6 ч от начала острого ишемического инсульта применении. Это свидетельствовало о том, что тромболитическая терапия может быть эффективна за пределами 3-часового диапазона в случае тщательного отбора пациентов.

Другой фибринолитический препарат — анкрод, созданный на основе яда малайской гадюки, также улучшал клинический исход инсульта при его введении в течение первых 3 ч после развития заболевания, но в меньшей степени, чем *rt-PA*, введенный в пределах 3 ч, и проурокиназа, примененная в пределах 6 ч [36]. Установлено, что тромболитическая терапия не показана при микроциркуляторных и гемодинамических инсультах.

По данным W. Haske с соавт. [25], в настоящее время только 1—2 % больных с ишемическим инсультом получают тромболитическую терапию, хотя даже при условии соблюдения 3-часового диапазона проведения этот процент мог быть выше (до 5—10).

Мультицентровые испытания не подтвердили эффективности других методов реперфузии. Однако субгрупповой анализ показал целесообразность применения антикоагулянтной терапии в первые дни прогрессивного истеротромботического инсульта, а также при подтвержденной кардиогенной эмболии и проведении хирургических вмешательств на сосудах мозга. Ограничениями к ее назначению являются стойкое высокое АД (более 180 мм рт. ст.) или, наоборот, значительное снижение АД, коматозное состояние, эпилептические приступы, тяжелые заболевания печени, почек, язвенная болезнь желудка и различные геморрагические проявления. Следует, однако, отметить, что даже при наличии противопоказаний, приходится использовать антикоагулянтную терапию в случае развития ДВС-синдрома.

Предпочтительно назначение прямого антикоагулянта — гепарина в течение первых 2—5 мес заболевания в суточной дозе до 10—15 тыс. ЕД под кожу живота (1—4—6 введений) или через инфузомат внутривенно. Обязателен лабораторный контроль за действием гепарина: время кровотечения должно удлиниться в 1,5—2 раза, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) не должно увеличиваться более чем в 2 раза. За 1—2 дня до окончания курса лечения гепарином целесообразно постепенное снижение его дозы под «прикрытием» антикоагулянтов непрямого действия, прием которых продолжается в последующие 3—4 нед. В связи с частым недостатком антитромбина-3 у больных с нарастающим тромбозом основной или внутренней сонной артерии рекомендуется одновременно с гепарином вводить плазму крови (100 мл 1—2 раза в день).

Гемодилюция и вазодилатантная терапия, не оказывая радикального реперфузионного действия, улучшают микроциркуляцию в ткани мозга, что служит основанием для традиционного их применения в первые дни ишемического инсульта под контролем гемореологических и сердечно-сосудистых показателей.

Проведение активной реперфузионной терапии возможно лишь в стационаре, после нейровизуализирующего исследования (КТ/МРТ головного мозга), позволяющего исключить геморрагический компонент поражения, оценить размеры ишемизированной территории и патогенетический вариант инсульта. Это оттеняет преимущества другого направления терапии — *нейропротекции* (син.: цитопротекция, метаболическая защита мозга), которая может использоваться на догоспитальном этапе при появлении первых симптомов инсульта, даже при возможном геморрагическом его характере.

По сравнению с реперфузией нейропротективная терапия более сложна и разнообразна, отражая разнообразие механизмов ишемического повреждения ткани мозга. Практически для каждого этапа ишемического каскада был разработан и прошел испытания хотя бы один препарат — нейропротектор. В настоящее время проводятся более 30 мультицентровых международных исследований разной фазы, посвященных препаратам разных фармакологических групп с потенциальными нейропротективными свойствами. По данным экспериментальных и клинических исследований [10, 14, 18, 19, 35, 40], раннее применение нейропротекторов позволяет увеличить долю транзиторных ишемических и «малых» инсультов среди острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу; значительно уменьшить размер инфаркта мозга; удлинить период «терапевтического окна», расширяя возможности для тромболитической терапии; осуществить защиту от реперфузионного повреждения.

Выделяют *первичную нейропротекцию*, направленную на прерывание быстрых реакций глутамат-кальциевого цикла, свободнорадикальных механизмов (см. рис. 13.1). Этот вид нейропротекции должен быть начат с первых минут ишемии и продолжаться в течение первых 3 дней инсульта, особенно активно в первые 24 часа.

Вторичная нейропротекция направлена на уменьшение выраженности отдаленных последствий ишемии за счет блокады провоспалительных цитокинов, молекул клеточной адгезии, торможение прооксидантных ферментов, усиление трофического окислительного метаболизма, прерывание апоптоза. Она может быть начата спустя 3–7 часов после развития инсульта и должна продолжаться по меньшей мере 7 дней.

Начиная с первых дней заболевания, после формирования морфологических инфарктных изменений в веществе мозга, все большее значение приобретает *регенеративная терапия*, направленная на улучшение пластичности окружающей ткани, окружающих инфаркт, активацию образования полисинapticких связей, увеличение плотности рецепторов. Вторичные нейропротекторы, обладающие трофическими и модуляторными свойствами, а также факторы (производные ГАМК) усиливают регенераторно-репаративные процессы, способствуя восстановлению нарушенных функций.

Важно отметить, что терапия острого ишемического инсульта включает и компоненты его *вторичной профилактики*. Особенно актуальной вторичная профилактика становится со 2-й недели заболевания, когда значительно нарастает риск повторных сосудистых эпизодов. К числу наиболее значимых профилактических мероприятий относятся контроль АД, глюкозы и липидов крови, а также применение истинных вазодилататоров: *аспирина, дилиридама, клопидогреля, тиклопидина*.

Таким образом, результаты клинико-экспериментальных исследований последних лет свидетельствуют о необходимости проведения ранней (в

пределах «терапевтического окна») комбинированной патогенетической терапии ишемического инсульта, включающей реперфузию, комбинированную нейропротекцию, стимуляцию репаративных процессов, а также компоненты вторичной профилактики (предотвращение (ре-) эмболии, вторичного сосудистого и тканевого повреждения). Внедрение современных принципов терапии ишемического инсульта позволяет достоверно улучшить исход заболевания: снизить летальность и повысить эффективность функционального восстановления больных.

Литература

1. Боголюбов Н.К. Церебральные кризы и инсульт. — М.: Медицина, 1971; 392.
2. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга: Актовая речь. — М., 1992.
3. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Боголюбов Н.Н. Сосудистые заболевания головного мозга. — М.: Медицина, 1979; 142.
4. Верещагин Н.В. Патология вертебробазилярной системы и нарушения мозгового кровообращения. — М.: Медицина, 1980; 310.
5. Попова Л.М. Нейрореаниматология. — М.: Медицина, 1983; 175.
6. Смирнова В.И. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1993; 379.
7. Albers G.W., Bates V.E., Clark W.M. et al. JAMA 2000; 283: 1155—1159.
8. Altain H., Decombe R., Salag B. et al. Cerebrovasc Dis 1991; 1: 85—92.
9. Borer D. Intern J. Med Practice 1999; 5: 26.
10. Bowers M.P., Rothlein R., Fagan S.C., Zivin J.A. Neurology 1995; 45: 815—819.
11. Chiu D., Krieger D., Villar-Cordova C. et al. Stroke 1998; 29: 18—22.
12. Clark W.M., Wissman S., Albers G.W. et al. JAMA 1999; 282: 2019—2026.
13. Collaborative systematic review of the effectiveness of organized in-patient (stroke unit) care after stroke. Stroke Unit Trialists Collaboration. BMJ 1997; 314: 1151—1159.
14. Devuyst G., Bogouslavsky J. J. Neurol Neurosurg Psychiatr 1999; 67 (4): 419—423.
15. The European Ad Hoc Consensus Group. Cerebrovasc Dis 1997; 7: 113—128.
16. EFNS Task Force on Neurological Stroke Care. Eur J Neurol 1997; 4 (5): 435—441.
17. Egan R., Lutsep H.L., Clark W.M. et al. J Stroke Cerebrovasc Dis 1999; 8: 298—299.
18. Fisher M. Stroke 1997; 28: 866—872.
19. Fisher M. The Neuroscientist 1999; 6: 392—401.
20. Fisher M., Bogouslavsky J. JAMA 1993; 270—360.
21. Fisher M., Bogouslavsky J. JAMA 1998; 279: 1298—1303.
22. Furian A., Litgauer R., Wechsler L. et al. PROACT II: Recombinant prourokinase (r-Pro-UK) in acute cerebral thromboembolism initial trial results. Stroke 1999; 30: 234.
23. Generalized efficacy of t-PA for acute stroke. Subgroup analysis of the NINDS t-PA Stroke Trial. Stroke 1997; 28: 2119—2125.
24. Grand M., Stenzel C., Schmulling S. et al. Stroke 1998; 29: 1544—1549.
25. Hacke W., Krieger D., Hirschberg H. Cerebrovasc Dis 1991; 1: 93—99.
26. Hacke W., Kasle M., Fieschi C. et al. JAMA 1995; 274: 1017—1025.
27. Hacke W., Kasle M., Fieschi C. et al. Lancet 1998; 352: 1245—1251.
28. Hacke W., Brodt T., Caplan L.R. et al. Neurology 1999; 53: 3—14.
29. Indredavik B., Bakke F., Skardahl S.A. et al. Stroke 1998; 29: 895—899.
30. Juby L.C., Lincoln N.B., Berman P. Cerebrovasc Dis 1996; 6: 106—110.
31. Kidwell C.S., Saver J.C., Mattiello J. et al. Neurology 1999; 52: 536.
32. Krieger D., Hacke W. Intensive Care Treatment of Ischemic Stroke. In: Acute Stroke Treatment (Bogouslavsky J. ed.). Martin Dunitz Ltd 1997; 79—108.
33. Li F., Han S., Taitsumak T. et al. Ann Neurol 1999; 46: 333—342.

34. *The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group.* Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995; 333: 1581—1587.
35. *Onal M.Z., Fisher M.* *Drugs of Today* 1996; 32 (7): 573—592.
36. *Sherman D.G. for the STAT writers group.* *Stroke* 1999; 30: 234.
37. *Tanne D., Mansbach H.H., Verro P., et al.* *Stroke* 1998; 29: 288.
38. *The European Ad Hoc Consensus Group.* *Cerebrovasc Dis* 1997; 7: 113—128.
39. *Toole J.* *Management of Acute Ischemic Stroke.* Winston-Salem 1995.
40. *Wahlgren N.G.* A review of earlier clinical studies on neuroprotective agents and current approaches. In: *Neuroprotective Agents and Cerebral Ischemia* (Green A.R., Cross A.J. ed.). Acad Press Limited 1997; 337—363.
41. *Wang D.Z., McLean J.M., Rose J.A. et al.* *Neurology* 1998; 50: 436.

Глава 14

Первичная нейропротекция

Первичная нейропротекция направлена на прерывание самых ранних процессов ишемического каскада, разворачивающихся в пределах «терапевтического окна» и лежащих в основе быстрого некротического повреждение ткани мозга (табл. 14.1).

Таблица 14.1. Основные направления первичной нейропротекции

Антагонисты потенциал-зависимых каналов	Дигидропиридины	Нимодипин (<i>nimodipine</i>) Дародипин (<i>dantrolene</i> , <i>RY 108</i>) Испрадин (<i>isradipine</i>) Элутропин (<i>elutropin</i>) Федоксат (<i>fedoxat</i>)	Эффективность не доказана Эффективность не доказана Грубые побочные эффекты Эффективность не доказана Эффективность не доказана
Антагонисты глутаматных рецепторов	Антагонисты NMDA рецепторов	Дизольпинин (<i>dizolcipine maleate</i> , <i>MK-801</i>) Декстрорфан (<i>dextrorphan</i>) Декстрометорфан (<i>dextrometorphan</i>) Церебрал (<i>cerebral</i> , <i>CNS-1102</i> , <i>aprilone hydrochloride</i>) Ремацемид (<i>remacemide hydrochloride</i>) Магния (<i>magnesium sulfate</i>)	Грубые побочные эффекты Грубые побочные эффекты Грубые побочные эффекты Грубые побочные эффекты Продолжение исследований Продолжение исследований
	Конкурентные	Селфотал (<i>sefotal</i> , <i>CGS-19755</i>)	Грубые побочные эффекты

	Селективные: полиаминно- вого сайта глицинового сайта	Элпродил (<i>elprodil</i> , SL-820715) GV-150526A ACEA-1021	⊗ Эффективность не доказана
	Антагонисты AMPA рецеп- торов	NBQX ZK 200775	⊗ Продолжение исследований Эффективность не доказана ⊗ Грубые побочные эффекты ⊗ Грубые побочные эффекты
Ингибиторы синтеза и пресинапти- ческого выс- вобождения глутамата		BW-619C89 Пропентофиллин (<i>propentofylline</i>) Фенитоин (<i>phenytoin</i>) фос-Фенитоин (<i>fos-phenytoin</i>) Лубелузол (<i>lubeluzole</i>)	⊗ Грубые побочные эффекты ⊗ Грубые побочные эффекты Эффективность не доказана Эффективность не доказана ⊗ Продолжение исследований
Агонисты ГАМК		Клометиазол (<i>chloamethiazole</i>)	⊗ Продолжение исследований
Глицин		Глицин (<i>glycine</i>)	⊗ Продолжение исследований

Обозначения: ⊗ — выполнен нейропротективный эффект; ⊗ — испытания прекращены.

14.1. Антагонисты потенциал-зависимых кальциевых каналов

Кальций-индуцированная токсичность была открыта в конце 70-х годов. Концепция «кальциевый наводнение клетки» при церебральной ишемии быстро получила широкое распространение [30, 37, 59, 166, 171, 172] и в течение ряда лет (до 90-х годов) механизм внутриклеточного накопления кальция считался ключевым в патофизиохимическом ишемическом каскаде. Полагали, что ионы Ca^{2+} поступают в клетку через потенциал-зависимые (потенциал-регулируемые) ионные каналы. В связи с этим первой обоснованной стратегией нейропротекции стала разработка антагонистов потенциал-зависимых кальциевых каналов. С 80-х годов проведено около 20 рандомизированных плацебо-контролируемых исследований ингибиторов L-типа потенциал-зависимых кальциевых каналов — **дигидропиридинов**.

Наиболее изучен дериват дигидропиридинов **нимодипин** (*nimodipine*) — жирорастворимый и легко проникающий через гематоэнцефалический барьер препарат [25, 73, 78, 119, 193, 194]. Доказано, что основным терапевтическим свойством нимодипина является предотвращение сосудистого спазма после субарахноидального кровоизлияния при введении его внутрь (перорально) и внутривенно [25, 50, 142–159]. Первые клинические испытания оральной [67, 68] и внутривенной [89] форм нимодипина при остром ишемическом инсульте дали обнадеживающие результаты. Однако рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование, проведенное в группе из 350 больных с инсультом, не подтвердило значимого положительного действия препарата (в дозе 120 мг/сут перорально в течение 21 дня начиная не позднее 48 ч после появления первых клиничес-

ких симптомов) на клинический исход инсульта. J.P. Mohr с соавт. [129] опубликовали итоги мета-аналитического исследования [129], основанного на результатах десяти независимых испытаний, которые включали 3719 больных. Достоверное снижение выраженности неврологического дефицита на фоне перорального приема нимодипина (на 38 % по сравнению с плацебо) отмечали лишь в случаях начала терапии в течение первых 12 ч после развития инсульта. В противоположность этому наблюдали достоверное ухудшение прогноза инсульта при отсроченном начале терапии, через 24 ч от дебюта заболевания или позднее. Полученные результаты явились предпосылкой для изучения эффективности раннего применения оральных форм нимодипина, в пределах 6-часового диапазона [115]. Это исследование не подтвердило положительного влияния препарата на клинический исход инсульта [93].

Многие исследования были посвящены изучению эффективности внутривенного введения нимодипина при остром ишемическом инсульте [31, 88, 134, 198]. Нимодипин назначали в дозе 2 мг/ч на протяжении 5 дней, а затем перорально по 120 мг/сут в течение 21 дня. Для сравнения использовали плацебо и меньшую внутривенную дозу нимодипина — 1 мг/ч [32, 200]. У больных, получавших нимодипин в дозе 2 мг/ч, отмечено статистически достоверное ухудшение неврологического и функционального исхода по сравнению с получавшими плацебо. При использовании меньшей дозы препарата (1 мг/ч) значимых различий с эффектом плацебо не обнаружено. В исследовании S.L. Bridges с соавт. [132] улучшение состояния на фоне применения нимодипина было зарегистрировано только в подгруппе больных с исходным (на момент госпитализации) состоянием средней тяжести при начале лечения в первые 12 ч. Результаты исследования J.W. Norris с соавт. [136], основанное на интратекальном введении нимодипина (2 мг/ч) 164 больным с острым ишемическим инсультом на протяжении 10 дней, а затем продолжении лечения пероральной формой препарата (180 мг/сут) в течение 6 мес, также не подтвердили его положительного действия на исход инсульта. Кроме того, было обнаружено, что внутривенное введение нимодипина вызвало серьезный побочный эффект — дозозависимое снижение систолического и диастолического АД, что прямо коррелировало с частотой неблагоприятных исходов и увеличением летальности [200].

Другим производным дигидропиридина, испытанным при ишемическом инсульте, является дародипин (*darodipine*, PY 108-068). Препарат ранее применяли при артериальной гипертензии и стенокардии напряжения. При острой фазе инсульта у животных дародипин повышает насыщение тканей мозга кислородом, улучшает восстановление нарушенных неврологических функций, снижает частоту летальных исходов [204]. Первые клинические испытания при инсульте показали, что малые дозы препарата улучшали мозговой кровоток в ишемизированной зоне, тогда как большие дозы могут ухудшать кровоток в перинфарктной области [194]. Пилотное исследование W.J. Oczkowski с соавт. [140], основанное на пероральном применении дародипина в дозе 150 мг/сут в течение первых 48 ч с момента развития ишемического инсульта, доказало относительную безопасность препарата и выявило тенденцию к улучшению функционального восстановления. Однако достоверных различий в исходах инсульта и показателях летальности с группой «плацебо» не выявлено. Побочным эффектом препарата является проходящая артериальная гипотония.

Исрадинин (*isradipine*) — антагонист потенциал-зависимых кальциевых каналов дигидропиридиновой группы, уменьшающий размеры инфаркта

мозга при экспериментальном ишемическом инсульте [164]. Исследования истрадина в клинике прекращены вследствие выраженных побочных эффектов препарата [27, 108].

Флунаризин (flunarizine) — производное дигидропиридина, потенциальный ингибитор T -типа потенциал-зависимых кальциевых каналов. Препарат широко используют для лечения вестибулярных нарушений и профилактики мигрени. Рандомизированные испытания флунаризина при остром ишемическом инсульте [116, 161] не подтвердили его нейропротективных эффектов, а также влияния на уровень АД.

В неврологической клинике Российского государственного медицинского университета впервые проведено пилотное простое слепое клиническое испытание нового производного дигидропиридина — **цереброкраста** (*cerebrokrast*; фирма «Гриндекс», Латвия) у 40 больных с каротидным ишемическим инсультом, поступивших в клинику не позднее 12 ч от начала заболевания [5]. Цереброкраст (2,6-диметил-3,5-бис[(2-пропоксиэтоксикарбонил-4-(2-дифторметоксифенил))-1,4-дигидрокси]пиридин), отличается от нимодипина и других известных производных дигидропиридина наличием в структуре дифторметоксигруппы, которая усиливает липофильность молекулы и церебральную селективность вазодилатирующего действия. В эксперименте на изолированных сосудах мозга цереброкраст оказывает спазмолитическое действие в концентрациях, в 1000 раз меньших, чем на артериях конечностей. Установлена высокая эффективность препарата при спазмах мозговых сосудов, возникающих в результате воздействия спазмогенов (простагландин F_2 , KCl), а также после развития субарахноидального кровоизлияния.

Цереброкраст назначали в суточной дозе 1 мг (10 мл 0,01 % раствора) внутривенно капельно в первые 12 ч после развития инсульта в течение 5 дней. Выявлены его относительная безвредность и хорошая переносимость. Не установлено значимого влияния препарата на системное АД, реологические и свертывающие свойства крови. В группе леченных цереброкрастом тенденция к ускоренному и более полному регрессу неврологических нарушений (по шкалам Ортогосо и Сандинавской, $p < 0,07-0,09$), а также к улучшению функционального восстановления (по индексу Бартела; $p < 0,07$) отмечена только у 9 (22,5 %) из 40 больных с исходно «мягким» течением инсульта (на момент поступления балл по шкале Ортогосо более 60). При тяжелых формах заболевания (при поступлении балл по шкале Ортогосо менее 40) преимущества лечения цереброкрастом не установлено; более того, наблюдали тенденцию к замедлению восстановительных процессов и ухудшению клинического исхода инсульта. Нейрофизиологическое мониторирование (ЭЭГ, топоселективное картирование ЭЭГ), проводившееся на фоне первого введения препарата и затем в течение 3 ч, позволило выявить в группе больных с состоянием средней тяжести тенденцию к нормализации спонтанной биоэлектрической активности мозга под влиянием цереброкраста: достоверно нарастала мощность α -диапазона ЭЭГ в затылочно-центральных отделах полушарий, преимущественно на пораженной стороне, в связи с чем сглаживалась межполушарная асимметрия по α -ритму; уменьшалась выраженность диффузной медленной (σ , θ) активности. Сравнительный анализ усредненных картограмм ЭЭГ на 6-е сутки после развития инсульта подтвердил более полную нормализацию паттерна ЭЭГ на фоне применения цереброкраста по сравнению с плацебо.

Введение цереброкраста тяжелобольным сопровождалось позитивными изменениями спонтанной биоэлектрической активности мозга: после кратковременной (на протяжении первых 15–30 мин капельного введения)

«ирритативной» стадии, проявившейся увеличением мощности быстрых (α , β) ритмов ЭЭГ, наблюдалось выраженное «истощающее» действие препарата в виде достоверного уменьшения мощности всех частотных диапазонов в ишемизированном полушарии, особенно в проекции очага поражения. Клинически этому соответствовало замедление регресса неврологических симптомов, а в 27,8 % случаев (у 5 из 18 больных) — нарастание выраженности очагового дефекта. К 6-м суткам у тяжелобольных, леченных церебрократом, сохранялись достоверно более грубые нарушения паттерна ЭЭГ, чем в аналогичной по тяжести группе «плацебо» ($p < 0,05$). Таким образом, нейрофизиологическое мониторирование подтвердило клинические выводы о нарастании негативных влияний церебрократы с утяжелением ишемического инсульта и позволило объяснить его неблагоприятные эффекты развитием синдрома «обкрадывания» в зоне ишемического очага за счет выраженной вазодилатации в перифокальной области.

Обзор клинических испытаний антагонистов потенциал-зависимых кальциевых каналов, проведенных у больных с острым ишемическим инсультом, свидетельствует об отсутствии у препаратов этой группы значимых нейропротективных свойств. В настоящее время это предположение закономерно, так как было установлено, что внутриклеточное регулирование кальция — сложный процесс, в основе которого лежат различные механизмы, и только один из них опосредуется через потенциал-зависимые кальциевые каналы (см. главу 4). Побочные эффекты препаратов, связанные с их вазодилатирующими свойствами и проходящей параллельно гипотонией, также являются ограничением для их применения в первые часы острой фокальной ишемии мозга.

14.2. Антагонисты глутаматных рецепторов

С открытием феномена «глутаматной эксайтотоксичности» и развитием представлений о глутамат-кальциевых каскадах стала очевидной роль агонист-зависимых (рецептор-опосредуемых) кальциевых каналов, встроенных в глутаматные рецепторы, в формировании повреждения ткани мозга на фоне ишемии. Следствием явилось изменение стратегий нейропротективных воздействий, создание препаратов — антагонистов глутаматных *NMDA* и *AMPA* рецепторов.

Антагонисты *NMDA* рецепторов уменьшают поток ионов Ca^{2+} в клетки через агонист-зависимые кальциевые каналы. Они были первыми нейропротективными препаратами, которые в экспериментальных условиях значительно (на 40—50 %) ограничивали область инфаркта мозга, прежде всего за счет сохранения живой зоны «ишемической полутени» [42, 151]. Блокада рецепторов может осуществляться конкурентными и неконкурентными антагонистами.

К неконкурентным антагонистам *NMDA* рецепторов относятся фенциклидин (*phencyclidine, PCP*), кетамин (*ketamine*), диэтилпилин (*dizolcipine maleate, MK-801*), декстрометорфан (*dextromethorphan*), декстрорфан (*dextrorphan*), церестат (*cerestat, CNS-1102, aptiganel hydrochloride*), ремисемид (*remacemide hydrochloride, FPL-12495*), магний (*magnesium*). Эти соединения связывают фенциклидин-распознающий сайт на *NMDA*-ассоциированных ионных каналах [35, 173, 197, 207].

Диэтилпилин в экспериментальных условиях проявляет значимый нейропротективный эффект: достоверно сокращает размеры инфарктных изменений при фокальной ишемии мозга. Позитивное действие препарата со-

храняется на различных животных моделях, а также при разных схемах его введения (до экспериментального инсульта, в меньшей степени после его индукции) [35, 104, 149]. Клинические испытания препарата были прекращены из-за широкого спектра грубых побочных действий (каталепсия, локомоторные нарушения, транзиторная артериальная гипотония, дозозависимые нарушения сознания) [33, 105, 150]. Кроме того, исследования J.W. Olney с соавт. [143] показали, что даже сравнительно низкие дозы диэтилопирина вызывают вакуолизацию ткани мозга, а L.W.S. Leung и K.A. Desborough [114] выявили, по данным ЭЭГ, индукцию препаратом выраженных нарушений функциональной активности мозга.

Декстрорфан и его производное **декстрометорфан** — неконкурентные антагонисты *NMDA* рецепторов, отличающиеся по механизму действия от диэтилопирина тем, что наряду с блоком *NMDA*-ассоциированных ионных каналов, ингибируют и *L*-тип потенциал-зависимых кальциевых каналов [22, 131]. Как и диэтилопирин, в экспериментальных условиях декстрорфан и декстрометорфан ограничивают зону инфаркта мозга при назначении их до и после окклюзии мозговой артерии [69, 178—180]. Пилотное исследование G.W. Albers с соавт. [22], проведенное у 10 больных с ишемическим инсультом, которым декстрометорфан назначали перорально в дозе 10 мг/сут в течение 3 нед, не установило тяжелых побочных эффектов препарата. Однако внутривенное введение декстрометорфана вызывало нистагм, тошноту, рвоту, сонливость, галлюцинации, спутанность сознания, двигательное беспокойство, артериальную гипотонию. Эти побочные эффекты нарастали с увеличением дозы препарата [22]. Дальнейшие клинические испытания были прекращены.

Церестат — неконкурентный антагонист *NMDA* рецепторов, при назначении которого экспериментальным животным через 15 мин после постоянной окклюзии средней мозговой артерии наблюдали уменьшение размеров инфаркта мозга на 66 % [116], при отсроченном применении на 50 % [123]. Анализ результатов лечения церестатом 94 больных с ишемическим инсультом [62] позволил считать относительную безопасность средних доз препарата, достаточной для проявления его нейропротективных свойств. В качестве побочных эффектов отмечены преходящая каталепсия, умеренная агитация, повышение АД (при более высоких дозах). Вторая фаза клинических испытаний церестата, проведенная у 120 больных, которые начинали получать препарат в первые 6 ч с момента развития инсульта, показала достоверным нейропротективный эффект при назначении его в максимальной дозе — 10 мг/кг [55]. Вместе с тем выраженность побочных эффектов помешала прекращению дальнейших исследований [110].

Ремзепид — низкоаффинный антагонист *NMDA* рецепторов, обладающий способностью ингибировать и потенциал-зависимые кальциевые каналы [144]. Первые клинические исследования выявили слабовыраженные побочные эффекты препарата в виде двоения в глазах и сонливости [130]. Во 2-й фазе клинических испытаний внутривенных и оральных форм ремзепида в дозе до 400 мг каждые 12 ч значимых побочных эффектов не обнаружено [131—133]. В настоящее время клинические испытания препарата продолжаются.

Ионы Mg^{2+} блокируют *NMDA*-ассоциированные каналы потенциал-зависимым способом, но электрофизиологически внеклеточный магний ведет как неконкурентный антагонист *NMDA* рецепторов [87, 137, 144]. В экспериментальных исследованиях Y. Izumi с соавт. [95], J.W. McDonald с соавт. [122], проведенных на моделях фокальной ишемии мозга, применение магния (*magnesium sulfate*) значительно уменьшало размеры инфаркта.

При экспериментальной глобальной ишемии мозга (окклюзия 4 сосудов, питающих мозг) применение $MgCl_2$ через 24 ч с момента инициации ишемии позволило достоверно сократить участок некроза в СА₁ зоне гиппокампа [191]. Пилотное клиническое испытание магнезии у 13 больных в первые часы после развития ишемического инсульта продемонстрировало безопасность ее введения; кроме того, увеличилась доля больных с хорошим неврологическим исходом, снизился показатель инвалидизации [181, 197]. Результаты лечения магнезией 60 больных с ишемическим инсультом [133] не только подтвердили безопасность препарата, но и установили достоверное снижение на 10 % частоты плохих исходов инсульта (смерть или тяжелая инвалидизация) по сравнению с группой больных, получавших плацебо (30 и 40 % соответственно). Испытания эффективности магнезии при ишемическом инсульте продолжаются [134].

Конкурентные антагонисты NMDA рецепторов (AP5, CPP, CGS-19755 и MDL 100, 453) прямо блокируют глутамат-распознающий NMDA-рецепторный сайт [202]. В экспериментах с острой фокальной ишемией мозга эффект этих препаратов выражался в достоверном сокращении размеров инфаркта даже в тех случаях, когда их назначали после инициации ишемии [31, 88].

Селфотел (selfotel, CGS-19755) — наиболее изученный препарат данной группы. Клиническое исследование безопасности и эффективности селфотела [79] показало, что его применение в дозах 12 ч после развития ишемического инсульта сопровождается минимумом побочных эффектов, как двигательное беспокойство, галлюцинации, спутанность сознания, паранойя, делирий (при назначении 2 мг/кг — в 100 %; 1,75 мг/кг — в 66 %; 1,5 мг/кг — в 50 % случаев). Побочные эффекты появлялись в среднем через 1–3 ч (до 22 ч) после введения дозы препарата и сохранялись на протяжении 2–60 ч. Степень клинического улучшения, оцененная по шкале *NIH (the National Institute of Health)*, на фоне лечения составила 71 % по сравнению с 36 % в группе получавших плацебо. Хорошее восстановление нарушенных когнитивных функций (индекс Барта более 70) отмечалось у 95 % больных, леченных селфотелом, по сравнению с 29 % в группе «плацебо». С учетом наибольшей безопасности дозы 1,5 мг/кг было проведено масштабное мультицентровое рандомизированное плацебо-контролируемое испытание этой дозы препарата при однократном ее введении в 4-часовом диапазоне после появления первых симптомов ишемического инсульта [43]. Побочные эффекты (ажитация, спутанность сознания, галлюцинации) были зарегистрированы у 57 % больных основной группы (из них 13 % в тяжелом состоянии) и у 18 % — получавших плацебо ($p=0,001$). Следует отметить, что 4 % больных, леченных селфотелом, имели двигательные нарушения (у пациентов, получавших плацебо, таких нарушений не было). Обнаружение серьезных побочных эффектов селфотела явилось основанием для прекращения клинических испытаний препарата.

Таким образом, доклинические экспериментальные исследования на животных разных видов продемонстрировали выраженные нейропротективные эффекты конкурентных и неконкурентных антагонистов NMDA рецепторов в виде достоверного и значительного уменьшения размеров зоны инфаркта в ткани мозга. Однако применение большинства из них в клинике оказалось невозможным из-за широкого спектра тяжелых побочных эффектов (общетоксических, психических, двигательных и др.). Побочные эффекты некоторых препаратов развивались при использовании малых и средних доз, до достижения в плазме крови уровня, достаточного для ока-

зания нейропротективного действия. В настоящее время продолжают клинические испытания лишь двух, наименее токсичных, неконкурентных антагонистов *NMDA* рецепторов: ремачемида и магнезина. Эффективность применения этих препаратов в первые часы после развития ишемического инсульта требует подтверждения в больших клинических группах.

Учитывая высокую токсичность блокаторов основных *NMDA* рецепторных сайтов (глутаматного и фенциклидинового), были предприняты попытки селективной блокады *NMDA* рецепторов путем воздействия на их модуляторные (полиаминовые и глициновые) сайты [64, 65].

Исследования К. Williams с соавт. [205] выявили способность эндогенных полиаминов (спермина и спермидина) регулировать активность *NMDA* рецепторов, способствуя их связыванию с неконкурентными антагонистами (дизолципин, *MK-801*) и увеличивая ионные потоки, проходящие через *NMDA*-ассоциированные каналы, что подтвердило наличие полиаминового модуляторного сайта на *NMDA* рецепторах. Как показали исследования В. Gotti с соавт. [74] и Н. Poignet с соавт. [160], антагонист полиаминового сайта элипродил (*eliprodil*, *SL-820715*) уменьшает размеры инфаркта мозга при экспериментальном ишемическом инсульте. При внутримозговом интратенториальном введении препарата (через 5 мин, 6 и 18 ч после окклюзии средней мозговой артерии) зона инфаркта сокращалась на 60–70 % по сравнению с контролем [205]. Пилотное клиническое исследование элипродила, проведенное в группе из 114 больных с острым ишемическим инсультом, выявило минимальные побочные эффекты в виде обратимого удлинения интервала *Q–T* на ЭКГ и головокружения [171]. Третья фаза мультицентрового клинического исследования препарата в группе из 483 больных [183] не подтвердила его эффективности при ишемическом инсульте, в связи с чем испытания были прекращены.

Глицин является ко-агонистом *NMDA* рецепторов. В субмикромоллярной концентрации (0,1 мкмоль) глицин действует регуляторный глициновый сайт рецепторов и таким образом увеличивает частоту открывания *NMDA*-ассоциированных ионных каналов, не влияя на амплитуду тока при действии агонистов *NMDA* [96, 105]. Антагонисты глицинового сайта *NMDA* рецепторов могут уменьшать выраженность *NMDA*-индуцированного «эксайтотоксического» повреждения [40, 70, 190, 203]. На экспериментальных моделях инсульта показаны нейропротективные свойства ряда препаратов из этой группы: *HA-66*, *L-687414*, *GV-150526A*, *ACPC* (1-aminocyclopropane carboxylic acid) — производная этой кислоты *ACEA-1021*, *ZD-9379* [132, 133, 184, 185]. В клиническим испытаниям были допущены 2 препарата: *GV-150526A* и *ACEA-1021* (*Icastinel*). В целом селективные блокаторы глицинового сайта оказались более безопасными, чем конкурентные и неконкурентные антагонисты *NMDA* рецепторов: они лучше переносились больными, и применение не сопровождалось развитием психических нарушений [24, 112, 203]. Вместе с тем 3-я фаза клинических испытаний *GV-150526A* не подтвердила достоверной эффективности препарата для достижения значимой нейропротекции.

Доказательства участия *AMPA* глутаматных рецепторов в развитии «эксайтотоксичности» и повреждающем действии ишемии (см. раздел 4.1.3) явились основанием для их использования в качестве дополнительной терапевтической мишени. Антагонисты *AMPA* рецепторов уменьшают поток ионов Na^+ в клетку, что предупреждает деполяризацию мембраны и последующее внутриклеточное накопление ионов Ca^{2+} , а также воды [100, 106]. При экспериментальной фокальной ишемии мозга антагонисты *AMPA* рецепторов *NBQX* и *ZK200775* проявили выраженные нейропротективные

свойства, в комбинации с тканевым активатором плазминогена они значительно повышали эффективность тромболизиса [35, 124]. В то же время установлены грубые побочные эффекты этих препаратов в виде нефротоксичности (*NBQX*) и выраженной седации (*ZK200775*), что делает их неприменимыми в клинических условиях [192, 197].

Таким образом, клинические испытания большинства наиболее сильных в эксперименте нейропротекторов — антагонистов глутаматных рецепторов были прекращены из-за широкого спектра серьезных побочных явлений. Использование менее токсичных низкоаффинных и селективных антагонистов *NMDA* рецепторов оказалось мало эффективным. Принимая во внимание широкую распространенность глутаматных рецепторов в ЦНС и их значимость для осуществления множества физиологических функций мозга, в том числе интеллектуально-мнестических, психических и локомоторных, трудно представить безопасность их «выключения». Закономерно, что эффективность нейропротекции, осуществляемой путем блокады глутаматных рецепторов, находится в прямой корреляционной связи с количеством и тяжестью побочных ее эффектов, что ставит под сомнение обоснованность данной терапевтической стратегии.

14.3. Ингибиторы синтеза и пресинаптического высвобождения глутамата

Высокая токсичность антагонистов глутаматных рецепторов обусловила поиск других эффективных методов уменьшения глутаматной «эксайтотоксичности». Новой стратегией нейропротекции явилось торможение синтеза и пресинаптического высвобождения глутамата, приводящее к уменьшению выраженности постсинаптической «эксайтотоксичности». К препаратам — ингибиторам высвобождения глутамата относятся *BW-619C89*, пропентофиллин (*propentofylline*), фенитоин (*phenytoin*), фосфенитоин (*fos-phenytoin*), дилуверал (*dilaveral*).

BW-619C89 — производное сульфаниламидов *BW-1003C87*, химически связанной с широко применяемым в педиатрии ламотриджином (ламиктал). Установлено, что *BW-619C89* действует на пресинаптические потенциал-зависимые натриевые каналы, уменьшая высвобождение глутамата в синаптическую щель. В экспериментальных исследованиях на моделях глобальной и фокальной церебральной ишемии препарат достоверно ограничивал размеры инфаркта и снижал смертность [75, 109, 175]. Однако проведенные клинические испытания [131—133] выявили неблагоприятные побочные эффекты *BW-619C89*. Третья фаза клинических исследований была отменена.

Пропентофиллин — ингибитор транспорта аденозина, необходимого для активации пресинаптических α_1 -рецепторов, связанных с натриевыми и кальциевыми каналами [54, 66]. Изменение состояния пресинаптических ионных каналов обуславливает торможение высвобождения нейротрансмиттеров. Пилотное клиническое исследование пропентофиллина, проведенное в группе из 30 больных с острым ишемическим инсультом, не определяло значимого ускорения функционального восстановления (по индексу Бартела); отмечалась лишь тенденция к улучшению метаболизма глюкозы в области инфаркта. Побочные эффекты препарата проявлялись артериальной гипотонией и снижением сократительной способности миокарда, что не позволило продолжить испытания.

Антиконвульсант фенитоин и его производное фос-фенитоин также являются антагонистами пресинаптических натриевых каналов с нейропро-

тективными свойствами [63]. Клинические испытания *фос-фенитоина* при ишемическом инсульте не установили значительного его влияния на течение и исход заболевания, однако показывали относительную безопасность препарата [187]. К побочным эффектам относились преходящая артериальная гипотония и сонливость.

Лубелузол — соединение бензотиазола, являющееся блокатором натриевых каналов. Препарат предотвращает пресинаптическое высвобождение глутамата, снижает концентрацию нейротрансмиттера во внесклеточном пространстве перинфарктной зоны мозга [168, 174], а также тормозит глутамат-индуцированную нейротоксичность оксида азота, снижая активность фермента *NO*-синтазы [111, 113]. В экспериментальных работах установлен сильный нейропротективный эффект лубелузола при острой фокальной ишемии мозга [26, 45]. Во 2-й фазе клинических испытаний [53], проведенных в группе из 232 больных с острым ишемическим инсультом, были показаны безопасность и хорошая переносимость препарата; при применении его с первых 6 ч в течение 5 дней в дозе 10 мг/сут отмечались снижение летальности на 10 % больше, чем в группе получавших плацебо, улучшение клинического исхода инсульта. В настоящее время завершены мульти-центровых плацебо-контролируемых исследования 2-й фазы, проведенных в Северной Америке (США, Канада) [80, 145], Европе и Австралии [51]. Лубелузол назначали в дозе 7,5 мг/ч внутривенно, а затем в дозе 10 мг/сут на протяжении 5 дней. В целом препарат переносился хорошо. Побочным эффектом, как и у элипродила, явилось преходящее удлинение интервала *Q-T* на ЭКГ.

В европейском исследовании не был подтвержден достоверный эффект препарата по основной «конечной точке» — показателю летальности, тогда как в северо-американском исследовании были установлены тенденция к снижению летальности и достоверное улучшение (на 7 %) числа больных с хорошим восстановлением нарушенных неврологических функций (полное восстановление или минимальные остаточные явления) через 3 мес после инсульта. Мета-анализ, включивший 1375 случаев ишемического инсульта, показал наличие положительного нейропротективного эффекта лубелузола у больных с «малым» и среднетяжелым инсультом, тогда как при тяжелом инсульте эффекта от лечения не было [86]. Для подтверждения эффективности лубелузола в последние годы было проведено клиническое исследование, основанное на его применении в течение первых 8 ч с момента развития инсульта [52]. Это исследование не подтвердило позитивного действия препарата, и изучение было прекращено.

14.4. ГЛЮТАМАТНЫЕ ГАМК

Установившаяся значимость дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами и недостаточности естественных защитных механизмов в патогенезе ишемического инсульта (см. раздел 4.1.1) определила выбор новой терапевтической стратегии для уменьшения глутаматной «эксайтотоксичности» — устранение нейротрансмиттерного дисбаланса путем активации тормозных систем.

ГАМК (γ -аминомасляная кислота, *GABA*) является главным тормозным нейротрансмиттером ЦНС, рецепторы которого широко распространены в структурах головного мозга, практически во всех нейрональных группах [58]. Представляя естественный механизм защиты, ГАМК ограничивает возбуждающий стимул как пресинаптически — через ГАМК_A рецепторы,

функционально связанные с потенциал-зависимыми кальциевыми каналами пресинаптических мембран, так и постсинаптически через ГАМК_A рецепторы (ГАМК-барбитурат-бензодиазепин-рецепторный комплекс), функционально связанные с потенциал-зависимыми хлорными каналами [13—16, 57].

Радиоиммунологическое исследование [60] подтвердило особенно широкую распространенность в структурах мозга ГАМК_A рецепторов. Наибольшая их плотность определяется в височной и лобной коре, гиппокампе, миндалевидных и гипоталамических ядрах, черной субстанции, сером веществе вокруг водопровода, ядрах мозжечка. Несколько в меньшей степени рецепторы представле-

ны в хвостатом ядре, скорлупе, таламусе, затылочной коре, элифизе. Активация постсинаптических ГАМК_A рецепторов приводит к гиперполяризации клеточных мембран и торможению возбуждающего импульса, вызванного деполяризацией [46, 101]. Все три субъединицы ГАМК_A рецептора (α , β и γ) связывают ГАМК, хотя наибольшая аффинность связывания отмечается с α -субъединицей (рис. 14.1). Барбитураты взаимодействуют с α - и β -субъединицами; бензодиазепины только с γ -субъединицей [28]. Показано, что аффинность связывания каждого из лигандов повышается, если параллельно с рецептором взаимодействуют другие лиганды.

Основная физиологическая роль ГАМК — модуляция активности главного возбуждающего нейротрансмиттера глутамата, создание устойчивого равновесия между возбуждающими и тормозными системами [126]. Существуют определенные пропорции между представленностью глутаматных и ГАМК рецепторов в разных областях мозга. Нейроны, наиболее чувствительные к ишемии, находясь с мощным глутамат-аспартатным возбуждающим «входом» на «демаритном дереве» имеют множество ГАМКергических терминалов на телах клеток [126, 172]. В первые секунды экспериментальной церебральной ишемии происходит мгновенное высвобождение глутамата и ГАМК с пресинаптических терминалей [77]. Однако в первые 4 ч наблюдается недостаточность ГАМКергической тормозной нейротрансмиссии [5, 7, 84]. Стимуляция ГАМК_A рецепторов в эксперименте позволяет регулировать деятельность глутамат-кальциевого «эксайтотоксического» каскада [77]. Экспериментальные исследования на моделях глобальной и фокальной ишемии мозга показали, что повышение уровня ГАМК с помощью торможения ее распада ингибитором фермента ГАМКтрансаминазы γ -винил-ГАМК (γ -vinyl-GABA) оказывает достоверное нейропротективное действие, защищая нейроны от ишемического повреждения, повышая в них уровень энергетического метаболизма [21, 170]. Применение агонистов ГАМК_A-рецепторов *мусцимола* (*muscimol*) и *кламетиазола* (*clonethiazole*) вызывает гиперполяризацию постсинаптических мембран нейронов, стаби-

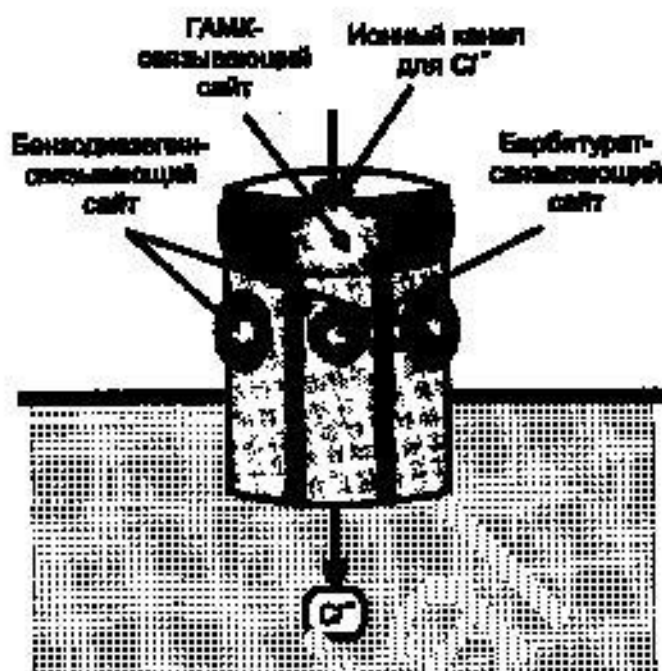


Рис. 14.1. ГАМК-цепочка.

лизировать потенциал покоя мембраны и, следовательно, блокирует перинифарктную деполяризацию, медленные волны «распространяющейся мембранной депрессии», расширяющей зону ишемического повреждения ткани мозга [94]. При экспериментальном ишемическом инсульте мусцимол и клонитазол достоверно уменьшают размер инфаркта мозга [118, 176, 182]. Клиническое исследование клонитазола в дозе 75 мг/кг в течение первых 24 ч после развития ишемического инсульта установило его безопасность для практического применения. Третья фаза европейского клинического исследования, проводившегося в группе из 1354 больных, лечение которых было начато в пределах 12-часового диапазона, не подтвердила эффективности клонитазола при ишемическом инсульте [198, 199, 201]. Однако у больных с тотальным инфарктом в бассейне передней мозговой артерии («тотальный передний инфаркт»), составивших 40 % всех обследованных пациентов, наблюдалось достоверное улучшение восстановления нарушенных неврологических функций (по индексу Бартали). Данный результат, а также умеренные побочные эффекты препарата (нежелательная сонливость и ринит) позволили продолжить клинические испытания клонитазола в группе больных с обширным инфарктом в бассейне средней мозговой артерии.

Большое внимание исследователей привлечено к роли другого тормозного нейротрансммиттера *глицина* в механизмах острой церебральной ишемии.

14.5. Глицин

Традиционно считалось, что глицин проявляет нейротрансммиттерные свойства на уровне спинного мозга, продолговатого мозга и моста, высвобождаясь в основном из сегментальных интернейронов и проприоспинальных систем и ингибируя посредством ассо-дендритических и аксо-аксональных контактов мотонейроны [4, 86, 92, 148]. Позднее была доказана роль глицина как тормозного нейротрансммиттера практически во всех отделах ЦНС. В головном мозге обнаружена высокая плотность глициновых рецепторов не только в структурах ствола, но и в коре больших полушарий, стриатуме, ядрах гипоталамуса, проводниках от лобной коры к гипоталамусу, мозжечке. G.E. Paxson, A.C. Foster [58], F. Mayot с соавт. [121] сделали вывод, что ГАМК и глицин являются равноценными нейротрансммиттерами, обеспечивая взаимное торможение в ЦНС, роль которого возрастает в условиях повышенного выброса глутамата. Ингибирующие свойства глицина проявляются посредством взаимодействия не только с собственными глициновыми рецепторами, но и с рецепторами ГАМК [58, 96, 121].

Вместе с тем J.W. Johnson и P. Ascher [98] впервые доказали в экспериментах, что глицин в субмикромолекулярных концентрациях необходим для нормального функционирования глутаматных *NMDA* рецепторов. Активация *NMDA* рецепторов возможна лишь при условии связывания глицина с их специфическими (нечувствительными к стрихнину) глициновыми сайтами, т.е. глицин является их ко-агонистом [90, 98, 102, 103, 152]. В нормальных условиях *in vivo* обычные концентрации эндогенного глицина полностью связывают участки глутаматных рецепторов [98, 102]. Потенцирующее действие глицина на *NMDA* рецепторы проявляется в концентрациях ниже 0,1 мкмоль, а концентрации от 10 до 100 мкмоль полностью насыщают глициновый сайт [41]. Введение высоких концентраций глицина (100 мкмоль и 1 ммоль) крысам в условиях недостатка кислорода не вызы-

нало длительной модуляции активности *NMDA* рецепторов в гиппокампе [99]. Применение встроенных электродов с использованием микродиализа [138, 139] подтвердило, что повышенные концентрации глицина, которые возникают при ишемии (10—100 мМоль), не активируют *NMDA*-индуцированную деполаризацию *in vivo* и, следовательно, не увеличивают «эксайто-токсичность». Интересно, что введение животным высоких доз глицина или некоторых его агонистов (1-амино-1-карбоксициклопропана, являющегося почти полным агонистом, и *D*-циclosерина, обладающего 40—60 % эффективности глицина) оказывает противосудорожное действие [107, 155, 156, 169, 177, 188, 189], а также усиливает эффекты противозипеллетических средств [154]. Такое влияние глицина и его агонистов было бы невозможным, если бы основным механизмом нейротрансмиссии являлась активация глутаматергических систем.

Наряду с нейротрансмиссивным глицин обладает также общеметаболическим действием, связывает низкомолекулярные токсичные продукты (альдегиды, кетоны), в больших количествах образующиеся в процессе ишемии [12, 125, 206].

В эксперименте на крысах с фокальной ишемией перед легким введением глицина в дозе 20 мг/кг (в течение первых 2 ч после операции, а далее 1 раз в день в течение 9 дней) сопровождалось значительным снижением концентрации глицина в ткани мозга (в стриатуме — на 63 %, в парietальной коре — на 45 %), достоверно увеличивало скорость оборота ГАМК как в зоне ишемии, так и в окружающей ткани по сравнению с контрольной группой животных [48]. На фоне применения глицина отмечалось значимое снижение концентраций продуктов оксидативного стресса в зоне ишемии, что сопровождалось быстрой нормализацией поведения и условных рефлексов у крыс [14, 163].

Установлено эффективное действие глицина через рецепторные зоны, что значительно расширяет его терапевтические возможности. Через 10 мин после нанесения меченого тритием глицина (³H-глицин) на конъюнктиву глазного яблока, интраназально, на слизистую оболочку щеки методом спинтиляционной спектрометрии регистрировали его повышенное потребление в разных мозговых структурах и cerebrospinalной жидкости [1, 14]. Нанесение глицина на конъюнктиву глазного яблока сопровождалось увеличением его концентрации до максимальной в первые 30 мин в зрительном перекресте и через 1 ч — в зрительной зоне коры [1].

Фармацевтический препарат глицин (сублингвальный форма) был создан в Лаборатории регуляции обмена веществ медицинского научно-производственного комплекса «Биотехника» (Россия). Основным его действующим веществом является глициноуксусная кислота глицин, фармацевтическим носителем — метилцеллюлоза (0,1—2,0 масс%). Исследования действия глицина у здоровых добровольцев и ограниченного количества больных с разнообразной неврологической патологией продемонстрировало полную его безопасность и хорошую переносимость [11]. Являясь естественным метаболитом мозга, глицин не проявлял токсичности даже в дозах более 10 г/сут. Единственным побочным эффектом препарата может считаться легкая седация. В ранних исследованиях было показано, что препарат глицин в дозах 300—600 мг/сут оказывает антистрессовый и ноотропный эффекты [11].

Экспериментальные данные о потенциальных нейропротективных свойствах глицина, внедрение в медицинскую практику его удобной фармацевтической формы, отсутствие токсичности и значимых побочных эффектов создали предпосылки для проведения первого клинического испытания глицина при острой фокальной ишемии мозга.

14.5.1. Рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование безопасности и эффективности глицина при каротидном ишемическом инсульте; изучение механизмов его нейропротективного действия

Впервые осуществлено клиническое испытание препарата глицина при острой фокальной ишемии мозга (Патент России № 282398, 1992/1997).

Исследования проводили с целью изучения безопасности и эффективности применения глицина у больных с ишемическим инсультом, его влияния на клинический исход заболевания, а также механизмов нейропротективного действия в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета [5, 17—19, 81, 84] по согласованию с Этическим комитетом. Больных включали в исследование после получения их (или их представителя) устного или письменного согласия.

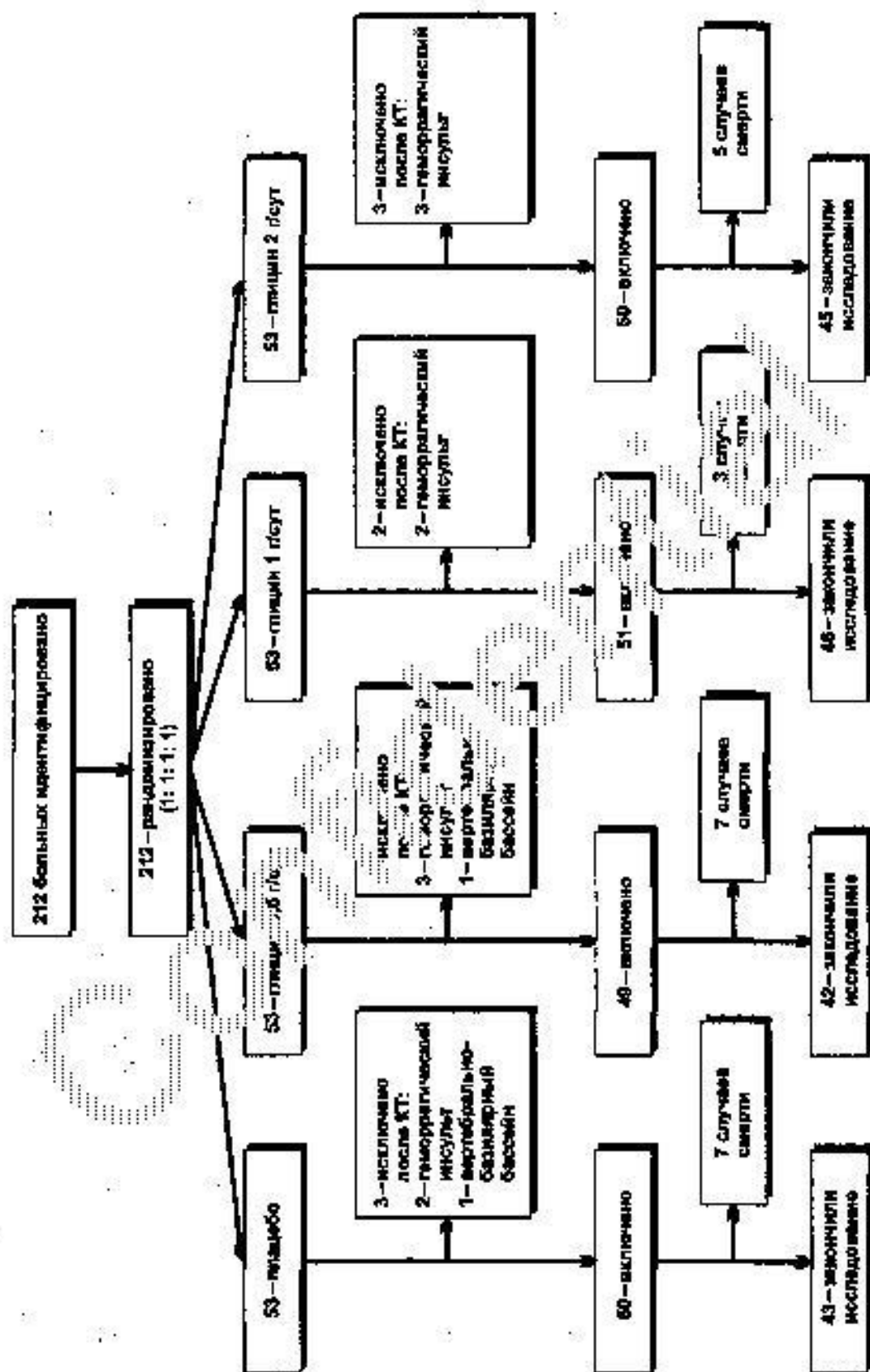
Исходно в исследование было принято 212 больных, поступивших в клинику в течение первых 6 ч с момента развития головного ишемического инсульта (схема 14.1). Критериями «включения» являлись: клинический диагноз первого в жизни ишемического инсульта, каротидной системы, возраст 45—75 лет, ясное сознание или умеренное расстройство сознания до уровня сопора (по шкале Оргогозо балл ≥ 10), начало терапии в первые 6 ч от начала заболевания. Из исследования исключали пациентов с повторными инсультами и остаточными явлениями острых нарушений мозгового кровообращения, другими неврологическими заболеваниями или тяжелой соматической патологией в стадии декомпенсации, а также больных с острым инфарктом миокарда (в течение предыдущих 6 нед), атриовентрикулярной блокадой II—III степени.

Поскольку протокол исследования позволял проведение КТ головного мозга в течение 24 ч от момента инсульта, 12 пациентов с выявленными на КТ внутримозжечковыми гематомами и вертебрально-базиллярной локализацией инсульта были исключены из первичной группы на 2-е сутки. В результате окончательная исследуемая группа составила 200 человек (110 мужчин и 90 женщин; средний возраст $63,7 \pm 10,1$ года), у 115 из которых диагностирован ишемический инсульт в системе левой, у 85 — правой внутренней сонной артерии (см. схему 14.1).

В течение первых 6 ч от начала инсульта пациентам рандомизированно и слепым образом назначено сублингвально плацебо или одна из трех доз глицина: 0,5; 1 и 2 г в день в течение 5 дней (см. схему 14.1). Блокаторы кальциевых каналов, пираретам (ноотропил), препараты с нейротрофическими и модуляторными свойствами (ганглиозиды, низкомолекулярные пептиды) и др. лечения не использовали. «Фоновая» терапия была максимально унифицирована и включала гемодилюцию, низкие дозы гепарина (при необходимости), аспирин и осмотические диуретики (при необходимости).

Базисная оценка состояния больных включала общее и неврологическое обследование, ЭКГ, клинические и биохимические анализы крови и цереброспинальной жидкости. КТ головного мозга проводили в первые 24 ч от момента развития инсульта. Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита использовали Скандинавскую шкалу [165] и шкалу Оргогозо [147], исход функционального восстановления оценивали по индексу Бартела [76, 120].

Схема 14.1. Исследование эффективности глицина у больных в острейшем периоде ишемического инсульта



Количество баллов в Скандинавской шкале и шкале Ортогосо имеет амплитуду от 0 (смерть больного) до 60 и 100 (отсутствие изменений в неврологическом статусе) соответственно. На основе исходного суммарного балла по шкале Ортогосо все больные были разделены на группы по тяжести ишемического инсульта: 65 баллов и выше — «мягкое» течение инсульта, от 64 до 41 балла — состояние средней тяжести, от 40 до 26 баллов — тяжелое состояние, 25 и менее — крайне тяжелое состояние. Начальное разделение сохранялось в течение всего исследования, и балльная оценка по другим шкалам проводилась внутри этих групп. Больные, умершие в течение первых 30 дней заболевания, были включены в анализ. Для оценки функционального статуса больного использовали индекс Бартеля: колебания от 0 до 45 баллов соответствовали тяжелой инвалидизации (значительное ограничение или полное нарушение неврологических функций), от 50 до 70 баллов — умеренной инвалидизации (умеренное ограничение неврологических функций), от 75 до 100 баллов — минимальному ограничению или сохранению неврологических функций [76].

Мониторирование АД, частоты сердечных сокращений и ЭКГ проводили в течение первых 6–12 ч после начала терапии и на 3-й, 5-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки. Неврологический статус оценивали при поступлении пациентов, по окончании лечения глицином (на 6-й день) и по окончании исследования — на 30-е сутки. Функциональное восстановление оценивали по индексу Бартеля на 30-е сутки.

Лабораторные исследования сыворотки крови проводили при поступлении больного и повторно в первые 6, 9, 12 и 24 ч, а также на 3-й, 5-е и 21-е сутки после развития ишемического инсульта, исследования цереброспинальной жидкости — в течение первых 6 ч после развития инсульта, перед назначением глицина, и повторно — на 3-й сутки.

Осложнений, связанных с проведением люмбальной пункции, отмечено не было. Смертность и побочные эффекты препарата отслеживали в течение всего исследования (30 дней). Безопасность терапии контролировал специально созданный комитет, который рассматривал все смертные случаи и побочные эффекты.

В качестве основных конечных точек исследования были выбраны безопасность препарата, степень выраженности неврологического дефицита по шкалам Ортогосо и Скандинавской, степень функционального восстановления по индексу Бартеля на 30-е сутки, летальность.

Учитывая экспериментальные данные о предполагаемых нейротрансмиттерных и общеметаболических механизмах нейропротективного действия глицина, для более полного изучения его эффектов в клинических условиях в протокол исследования включили определение титра аутоантител к фенциклину-связывающему белку глутаматных *NMDA* рецепторов в сыворотке крови, концентраций нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата, аспартата, глицина и ГАМК) и вторичных продуктов ПОЛ в цереброспинальной жидкости. Иммуно-биохимическое исследование проводили совместно с кафедрой фармакологии РАМН (К.С. Раевский, В.С. Кудрин, В.Г. Башкитова) и Институтом мозга человека РАН (С.А. Дамбинов с сотр.). Описание методик исследования приведено в главе 4.

Статистический анализ. Демографические и базисные характеристики сопоставляли, используя тест *Cohran-Mantel-Haenszel* для показателей категории (пол) и *ANOVA* для изменяющихся показателей (возраст). Типовой *t*-тест применяли для гемодинамических показателей с целью оценки отклонений от базисных значений.

Первичный анализ эффективности глицина проводили у всех пациентов с ишемическим инсультом, которые были включены в исследование. Анализ безопасности осуществляли также у всех рандомизированных пациентов, которым лечение было проведено полностью. Для исследования использовали описательную

статистику и частотные распределения. Критерий Уилкоксона применяли для определения значимых различий связанных переменных, *U*-тест Манна-Уитни — для несвязанных переменных. Динамику биохимических параметров оценивали по тесту ANOVA. Показатели летальности и нетрудоспособности (по индексу Бартеда) сравнивали с использованием теста Фишера.

При анализе результатов лечения больных глицином не установлено существенного различия в клинической динамике между группами, получавшими глицин в дозах 1 и 2 г/л. Это позволило проводить анализ биохимических параметров в двух выделенных подгруппах с применением глицина в дозах 0,5 и 1—2 г/сут (различия не анализировались).

Для всех тестов был выбран двусторонний 5 % уровень значимости. Различия между показателями признавались существенными на 5 % уровне во всех проведенных сравнениях.

По этиологическим факторам, особенностям дебюта заболевания, срокам госпитализации, возрастному и половому составу все анализируемые группы больных были сопоставимы (табл. 14.2).

Таблица 14.2. Демографические и исходные клинические данные 200 больных с каротидным ишемическим инсультом, включенных в исследование

Под (м/ж)	28/22	25/13	27/24	30/20	> 0,05
Средний возраст, годы	65,1±9,5	64,7±11,1	67,3±8,7	66,7±9,7	> 0,05
Соотношение числа пациентов с поражением левого/правого полушария	15/13	18/7	28/23	27/23	> 0,05
Время, прошедшее с момента развития инсульта до поступления в стационар, ч	5,7±0,2	5,3±0,2	5,4±0,2	5,2±0,3	> 0,05
Средний балл на момент поступления по OSS	41,2±42,6	41,06±2,4	38,88±1,9	40,9±2,1	> 0,05
Количество пациентов с баллом по OSS 40 и менее (тяжелый инсульт)	19 (38%)	20 (40,8%)	21 (41,2%)	20 (40%)	> 0,05
Количество пациентов с баллом по OSS 41—64 (инсульт средней тяжести)	23 (46%)	22 (45%)	32 (45,1%)	24 (48%)	> 0,05
Количество пациентов с баллом по OSS 65 и более («малый» инсульт)	8 (16%)	7 (14,2%)	7 (13,7%)	6 (12%)	> 0,05
Средний балл при поступлении по SSS	27,0±1,4	27,7±1,3	26,48±1,3	26,91±1,2	> 0,05

Клинический анализ установил значимое ($p < 0,05$) снижение летальности в группе больных, получавших глицин в дозе 1 г/сут, по сравнению с группой «плацебо». Аналогичная тенденция ($p < 0,1$) была отмечена в группе получавших глицин в дозе 2 г/сут (табл. 14.3). При этом из 8 умерших больных, леченных глицином, шесть умерли внезапно, на фоне общего улучшения состояния (трое от тромбоэмболии легочной артерии и трое — от ост-

Таблица 14.3. Летальность и причины смерти больных.

Число умерших:				
в целом по группе	7/50 (14,0%)	7/49 (14,3%)	3/51 (5,9%)*	5/50 (10%)
с исходным суммарным клиническим баллом по ОСС более 40 (инсульт средней тяжести)	2/31 (6,5%)	2/29 (6,9%)	0/30 (0%)	1/30 (3,3%)
с исходным суммарным клиническим баллом по ОСС 25—39 (тяжелый инсульт)	2/11 (18,2%)	2/12 (16,7%)	1/11 (9,1%)	2/13 (15,4%)
с исходным суммарным клиническим баллом по ОСС менее 25 (крайне тяжелый инсульт)	3/8 (37,5%)	3/8 (37,5%)	2/10 (20%)	2/7 (28,6%)
Причина смерти:				
отек мозга с развитием вторичного стволового синдрома	5	3	1	1
тромбоэмболия легочной артерии	1	0	1	2
острая сердечная недостаточность	1	0	1	2
повторный инсульт	0	1	0	0

Примечание. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$.

рой сердечной недостаточности). Летальность в группе больных с прогрессирующим течением и стойким нарастанием неврологического дефицита у получавших глицин в дозах 1 и 2 г/сут составила 2 %, тогда как в группах леченных плацебо и глицином в дозе 0,5 г/сут — 10 % (5/50) и 6,1 % (3/49) соответственно.

Положительные клинические эффекты глицина в дозе 1—2 г/сут проявлялись уже в первые часы и дни заболевания. После 1-го приема препарата наблюдалась общая активизация больных, уменьшение выраженности общемозговых симптомов, улучшение самочувствия. При исходном наличии сонливости, оглушенности препарат оказывал «пробуждающий» эффект.

Положительная клиническая динамика у пациентов средней тяжести, получавших глицин, отмечалась в 91 % (81/89) случаев, а то время как у получавших плацебо — лишь в 74,2 % (23/31). В группах тяжелобольных, леченных глицином, стабильный регресс неврологических симптомов наблюдался в 68,9 % (42/61) случаев, что значительно превышало аналогичный показатель в группе «плацебо» (31,5 %; 6/19). Прогрессирующее течение инсульта зарегистрировано у 16,4 % (10/61) тяжелобольных, получавших глицин, и у 42,1 % (8/19) — плацебо.

Анализ динамики неврологического статуса выявил ускоренный регресс неврологического дефицита на 6-е и 30-е сутки у пациентов, принимавших глицин в дозах 1 и 2 г/сут, по сравнению с получавшими плацебо (табл. 14.4),

причем более значимыми различия оказались в группе больных, принимавших 1 г глицина в сутки. При дозе глицина 0,5 г/сут тенденция к ускорению регресса неврологического дефицита отмечена только у больных с инсультом средней тяжести к 30-м суткам заболевания (см. табл. 14.4).

Таблица 14.4. Прирост суммарного клинического балла при каротидном ишемическом инсульте разной степени тяжести (M±m)

а. Анализ данных 212 идентифицированных больных (attention-to-treat анализ)

К 6-м суткам заболевания					
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	14,5±1,2 (n = 32)	14,43±1,5 (n = 30)	22,05±1,3** (n = 31)	16,93±1,3 (n = 31)
	Тяжелый инсульт	5,5±1,0 (n = 21)	5,8±0,9 (n = 23)	20,17±1,6** (n = 22)	16,1±1,6** (n = 22)
Скандинавская	Инсульт средней тяжести	5,11±0,8 (n = 32)	5,24±0,7 (n = 30)	7,5±0,6 (n = 31)	6,85±0,7 (n = 31)
	Тяжелый инсульт	3,57±0,9 (n = 21)	3,22±0,9 (n = 23)	1,76±1,1** (n = 22)	10,10±1,1** (n = 22)
К 30-м суткам заболевания					
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	18,64±2,0 (n = 32)	24,64±2,1 (n = 30)	33,52±1,9** (n = 31)	27,20±2,2** (n = 31)
	Тяжелый инсульт	13,85±1,1 (n = 21)	5,3±1,1 (n = 23)	34,04±2,6** (n = 22)	31,95±2,7** (n = 22)
Скандинавская	Инсульт средней тяжести	9,52±1,0 (n = 32)	5,80±1,2** (n = 30)	21,09±0,7** (n = 31)	19,94±1,2** (n = 31)
	Тяжелый инсульт	1,5±1,2 (n = 21)	1,12±2,6 (n = 23)	23,19±1,7** (n = 22)	22,25±1,9** (n = 22)

б. Анализ данных 200 включенных в исследование больных (on-treatment анализ)

К 6-м суткам заболевания					
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	14,28±1,1 (n = 31)	14,58±1,4 (n = 29)	22,28±1,3** (n = 30)	17,09±1,2 (n = 30)
	Тяжелый инсульт	5,77±0,9 (n = 19)	6,32±0,9 (n = 20)	20,42±1,5** (n = 21)	16,75±1,5** (n = 20)
Скандинавская	Инсульт средней тяжести	5,15±0,7 (n = 31)	5,28±0,6 (n = 29)	7,31±0,5* (n = 30)	6,91±0,7 (n = 30)
	Тяжелый инсульт	3,74±0,8 (n = 19)	3,40±0,7 (n = 20)	12,61±1,1** (n = 21)	10,87±1,0** (n = 20)
К 30-м суткам заболевания					
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	18,92±1,9 (n = 31)	24,77±2,8* (n = 29)	33,97±1,7** (n = 30)	27,61±2,1** (n = 30)
	Тяжелый инсульт	14,78±2,9 (n = 19)	17,47±3,7 (n = 20)	34,71±2,5** (n = 21)	33,35±2,6** (n = 20)

Скандинавская	Инсульт средней тяжести	9,70±0,9 (n = 31)	16,00±1,1** (n = 29)	21,29±0,6** (n = 30)	20,10±1,1** (n = 30)
	Тяжелый инсульт	10,83±2,3 (n = 19)	12,04±2,5 (n = 20)	23,82±1,6** (n = 21)	23,48±1,7** (n = 20)

Примечания. 1. Тяжесть инсульта оценена по шкале Ортогосо на момент госпитализации: более 40 — инсульт средней тяжести; 40 и менее — тяжелый инсульт. 2. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

Оценка динамики отдельных очаговых симптомов выявила статистически значимое ускорение восстановления двигательных ($p < 0,02-0,03$) и чувствительных ($p < 0,04-0,05$) функций на фоне применения глицина в дозах 1 и 2 г/сут.

Установлено увеличение доли больных с хорошим восстановлением нарушенных неврологических функций (по индексу Бартела) в группах леченных глицином в дозах 1 и 2 г/сут, по сравнению с группами больных, получавших 0,5 г/сут глицина или плацебо. Различия были более выражены у больных, принимавших глицин в дозе 1 г/сут, по сравнению с исходной тяжестью инсульта. Наряду с этим отмечалось статистическое снижение числа случаев тяжелой инвалидизации в группах получавших глицин в дозах 1 и 2 г/сут ($p < 0,01-0,05$ по сравнению с группами «плацебо» и глицина в дозе 0,5 г/сут) (табл. 14.5).

Таблица 14.5. Степень функционального восстановления (по индексу Бартела) к 30-м суткам лечения после ишемического инсульта

а. Анализ данных 212 идентифицированных больных (intention-to-treat анализ)

Группа в целом	Глицин 0,5 г/сут	Глицин 1 г/сут	Глицин 2 г/сут	Плацебо

смерть	7/53 (15,1%)	8/53 (15,1%)	3/53 (5,7%)	6/53 (11,3%)
тяжелая инвалидизация	10/53 (18,9%)	8/53 (15,1%)	1/53 (1,8%)*	3/53 (5,7%)*
умеренная инвалидизация	21/53 (39,6%)	20/53 (37,7%)	8/53 (15,1%)*	11/53 (20,7%)
хорошее восстановление	14/53 (26,4%)	17/53 (32,1%)	41/53 (77,4%)*	33/53 (62,3%)

Инсульт средней тяжести:

смерть	2/32 (6,3%)	2/30 (6,7%)	0/31 (0%)	1/31 (3,2%)
тяжелая инвалидизация	1/32 (3,1%)	1/30 (3,3%)	0/31 (0%)	0/31 (0%)
умеренная инвалидизация	17/32 (53,1%)	14/30 (46,7%)	3/31 (9,7%)*	5/31 (16,1%)*
хорошее восстановление	12/32 (37,5%)	13/30 (43,3%)	28/31 (90,3%)*	25/31 (80,7%)

Тяжелый инсульт:				
смерть	6/21 (28,6%)	6/23 (26,1%)	3/22 (13,7%)	5/22 (22,7%)
тяжелая инвалидизация	9/21 (42,9%)	7/23 (30,4%)	1/22 (4,5%)*	3/22 (13,7%)
умеренная инвалидизация	4/21 (19,0%)	6/23 (26,1%)	5/22 (22,7%)	6/22 (27,3%)
хорошее восстановление	2/21 (9,5%)	24/23 (17,4%)	13/22 (59,1%)*	8/22 (36,3%)

б. Анализ данных 200 включенных больных (on-treatment анализ)

Группа в целом:				
смерть	7/50 (14%)	7/49 (14,3%)	3/51 (5,9%)	5/50 (10,0%)
тяжелая инвалидизация	9/50 (18,0%)	6/49 (12,2%)	0/51 (0%)*	2/50 (4,0%)*
умеренная инвалидизация	20/50 (40,0%)	19/49 (38,8%)	8/51 (15,7%)*	10/50 (20,0%)
хорошее восстановление	14/50 (28,0%)	17/49 (34,7%)	40/51 (78,4%)*	33/50 (66,6%)
Инсульт средней тяжести:				
смерть	2/31 (6,5%)	2/29 (6,9%)	0/30 (0%)	1/30 (3,3%)
тяжелая инвалидизация	1/31 (3,2%)	1/29 (3,5%)	0/30 (0%)	0/30 (0%)
умеренная инвалидизация	16/31 (51,6%)	11/29 (37,9%)	3/30 (10,0%)*	4/30 (13,3%)*
хорошее восстановление	12/31 (38,7%)	13/29 (44,8%)	27/30 (90,0%)*	25/30 (83,3%)
Тяжелый инсульт:				
смерть	5/19 (26,3%)	5/20 (25,0%)	3/21 (14,3%)	4/20 (20,0%)
тяжелая инвалидизация	1/19 (5,3%)	5/20 (25,0%)	0/21 (0%)*	2/20 (10,0%)
умеренная инвалидизация	4/19 (21,1%)	6/20 (30,0%)	5/21 (23,8%)	6/20 (30,0%)
хорошее восстановление	2/19 (10,5%)	4/20 (20,0%)	13/21 (61,9%)*	8/20 (40,0%)

Примечания. 1. Исход функционального восстановления оценен по индексу Бартели: 0—45 баллов — тяжелая инвалидизация, 50—70 — умеренная инвалидизация, 75—100 — минимальное ограничение или полное восстановление неврологических функций. 2. Тяжесть инсульта оценена по шкале Ортогоссу на момент госпитализации: более 40 — инсульт средней тяжести, 40 и менее — тяжелый. 3. Достоверность различий с группой «платебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$. 4. Достоверность различий с группой больных, получавших глицин в дозе 0,5 г/сут. * — $p < 0,05$.

Произведенный в первые 6 ч (перед введением глицина) иммуноферментный анализ сыворотки крови на наличие аутоантител к глутаматным *NMDA* рецепторам выявил их повышенный уровень во всех группах пациентов с острым ишемическим инсультом по сравнению с контролем ($p < 0,01$). Повышение было значительно более выраженным у тяжелобольных, что согласовывалось с предыдущими результатами (см. раздел 4.2). В группах получавших плацебо и глицин в дозе 0,5 г/сут различия уровней аутоантител у больных с тяжелым инсультом и инсультом средней тяжести сохранялись в течение 12 ч после развития заболевания ($p = 0,01$). В то же время уже после 1-го введения 12 г глицина у тяжелобольных отмечалась стабильная нормализация титра аутоантител к *NMDA* рецепторам ($p < 0,01$ по сравнению с плацебо и глицином в дозе 0,5 г/сут). Статистический анализ *ANOVA* определил достоверные различия ($p < 0,01$) в динамике титров аутоантител в первые 6 и 12 ч заболевания у больных, принимавших 1–2 г глицина в сутки, по сравнению с получающими плацебо и глицин в дозе 0,5 г/сут (табл. 14.6; рис. 14.2).

У пациентов с регрессирующим течением инсульта во всех исследованных группах отмечалась тенденция к нормализации титра аутоантител к *NMDA* рецепторам через 9–12 ч после начала заболевания (табл. 14.6 и рис. 14.2).

Таблица 14.6. Динамика титров антител к ферменту, специфичному белку глутаматных *NMDA* рецепторов (в наномольных единицах на 1 мл) в сыворотке крови больных с каротидным ишемическим инсультом (*M $\pm$ m*)

		n = 31	n = 29	n = 60
Инсульт средней тяжести	При поступлении (до начала терапии глицином)	4,86 $\pm$ 0,8 [#]	3,51 $\pm$ 0,9 [#]	33,55 $\pm$ 0,4 [#]
	6 ч	3,95 $\pm$ 0,7	3,45 $\pm$ 0,7	2,30 $\pm$ 0,8
	9 ч	2,54 $\pm$ 0,3	2,74 $\pm$ 0,8	1,85 $\pm$ 0,7 [^]
	12 ч	2,72 $\pm$ 0,3	2,78 $\pm$ 0,3	1,84 $\pm$ 0,4
	24 ч	2,45 $\pm$ 0,3	2,05 $\pm$ 0,3	1,89 $\pm$ 0,2
	72 ч	2,80 $\pm$ 0,5	2,10 $\pm$ 0,4	1,45 $\pm$ 0,6
	120 ч	1,63 $\pm$ 0,1	1,59 $\pm$ 0,1	1,55 $\pm$ 0,4
Тяжелый инсульт	При поступлении (до начала терапии глицином)	5,04 $\pm$ 0,9 ^{**}	4,75 $\pm$ 0,7 ^{**}	5,10 $\pm$ 0,6 ^{**}
	6 ч	5,10 $\pm$ 0,7 [*]	5,05 $\pm$ 0,8 [*]	2,40 $\pm$ 0,4 ^{^^}
	9 ч	7,90 $\pm$ 1,2 [*]	6,41 $\pm$ 1,1 [*]	2,23 $\pm$ 0,4 ^{^^}
	12 ч	7,30 $\pm$ 1,5 [*]	4,95 $\pm$ 0,6 [*]	2,90 $\pm$ 0,5 ^{^^}
	24 ч	3,20 $\pm$ 0,6	2,70 $\pm$ 0,3	1,95 $\pm$ 0,5
	72 ч	3,50 $\pm$ 0,5	2,55 $\pm$ 0,3	1,70 $\pm$ 0,1
	120 ч	1,67 $\pm$ 0,3	1,30 $\pm$ 0,4	1,66 $\pm$ 0,1

Примечания. 1. Достоверность различий с контролем: # — $p < 0,01$. 2. Достоверность различий между группами больных с тяжелым инсультом и инсультом средней тяжести: * — $p < 0,01$. 3. Достоверность различий между группами больных, леченных глицином в дозе 1–2 г/сут и плацебо: ^ — $p < 0,05$, ^^ — $p < 0,01$. 4. Достоверность различий между группами больных, леченных глицином в дозе 1–2 и 0,5 г/сут: * — $p < 0,01$.

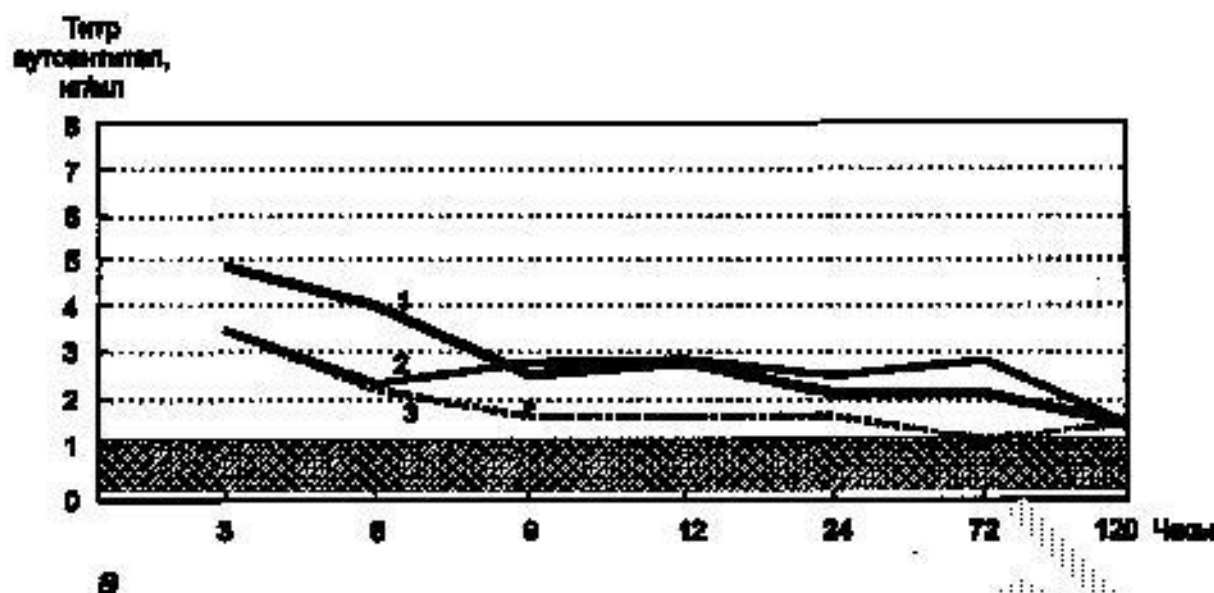


Рис. 14.2. Титр аутоантител к фенциклидин-связывающему белку глутаматных NMDA рецепторов в сыворотке крови больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — состояние средней тяжести; б — тяжелое. 1 — больные, принимавшие плацебо; 2 — больные, леченные глицином в дозе 0,5 г/сут; 3 — больные, получавшие глицин в дозе 1—2 г/сут. Заштрихованная область — норма. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; достоверность различий с группой больных, леченных глицином в дозе 0,5 г/сут: * — $p < 0,01$.

Анализ концентраций нейротрансмиттерных аминокислот в cerebrospinalной жидкости в первые 6 ч (перед введением глицина) выявил существенное увеличение уровня возбуждающих аминокислот (аспартат, глутамат) у больных с инсультом разной тяжести ($p < 0,001$ по сравнению с контролем — см. раздел 4.1). Отмечена тенденция к повышению концентрации глицина ($p = 0,06$). Концентрация ГАМК у пациентов с регрессирующим течением инсульта не отличалась от контрольной, в то время как у

больных с исходно тяжелым инсультом уровень ГАМК был значительно ниже, чем в контроле ($p < 0,01$). В первые 6 ч не установлено существенных различий в концентрации нейротрансмиттерных аминокислот у пациентов всех исследованных групп (табл. 14.7).

Таблица 14.7. Динамика концентраций нейротрансмиттерных аминокислот (в микромолях на 1 л) в цереброспинальной жидкости больных с ишемическим инсультом (M±SD)

Инсульт средней тяжести		n = 31	n = 29	n = 60
Глутамат	первые 6 ч	26,30±3,5	25,50±4,35**	26,96±3,2**
	3-и сутки	16,66±1,84	17,88±1,7	14,79±1,16
Аспартат	первые 6 ч	79,88±7,13	82,88±7,73*	70,79±7,28**
	3-и сутки	98,33±1,73	80,43±8,79	66,90±5,03*^
Глицин	первые 6 ч	24,21±4,4	28,60±7,72	33,91±2,79
	3-и сутки	29,93±2,8	21,79±4,7	34,16±3,33
ГАМК	первые 6 ч	0,87±0,49	0,97±0,87	0,68±0,29
	3-и сутки	1,75±0,87	1,55±0,78	1,94±0,68
Тяжелый инсульт		n = 19	n = 20	n = 41
Глутамат	первые 6 ч	33,36±5,1**	32,30±4,15**	35,84±3,47**
	3-и сутки	38,79±6,4	36,37±5,93	23,32±1,97***^
Аспартат	первые 6 ч	70,79±6,38**	65,25±5,78**	59,78±2,48**
	3-и сутки	4,98±4,88	56,48±5,03	41,18±3,08***^
Глицин	первые 6 ч	27,53±3,59	30,99±3,86	40,03±2,53
	3-и сутки	36,44±4,12	28,86±4,39	28,99±1,99
ГАМК	первые 6 ч	0,097±0,097*	0,097±0,097*	0,19±0,097*
	3-и сутки	0,097±0,097	0,29±0,097	1,94±0,49***^

Примечания: 1. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$. 2. Достоверность различий между группами больных, леченных глицином в дозе 1—2 г/сут и плацебо: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$. 3. Достоверность различий между концентрациями в первые 6 ч и на 3-и сутки: ^ — $p < 0,05$, ^^ — $p < 0,01$. 4. Достоверность различий между группами больных, леченных глицином в дозе 1—2 и 0,5 г/сут: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

На 3-и сутки на фоне лечения глицином в дозах 1—2 г/сут определялась тенденция к нормализации концентрации аминокислот (по сравнению с получавшими плацебо и глицин в дозе 0,5 г/сут), которая была более достоверной и выраженной у тяжелобольных. В группе тяжелобольных отмечалось достоверное снижение уровней глутамата на 35 % и аспартата на 31 %. В то же время концентрация ГАМК у тяжелобольных значительно нарастала к 3-м суткам ($p < 0,01$ по сравнению с группами

получавших плацебо и глицин в дозе 0,5 г/сут; $p < 0,05$ по сравнению с исходным на 1-й день уровнем). В группе больных с инсультом средней тяжести применение глицина в дозах 1–2 г/сут сопровождалось аналогичной динамикой концентраций аминокислот, однако статистически значимые различия получены только для аспартата ($p < 0,01$ по сравнению с плацебо и исходным на 1-й день уровнем) (см. табл. 14.7). Значимых различий в уровнях возбуждающих и тормозных аминокислот между группами больных, получавших плацебо и глицин в дозе 0,5 г/сут, выявлено не было.

Изучение перекисного окисления липидов в первые 6 ч с момента развития инсульта (перед началом терапии глицином) выявило умеренное повышение концентраций вторичных продуктов ПОЛ ($p < 0,05$ по сравнению с контролем) во всех группах больных без существенных различий между ними. У больных с инсультом средней тяжести, получавших плацебо, к 3-м суткам отмечалась тенденция к дальнейшему увеличению концентрации продуктов ПОЛ. Вместе с тем в группах, леченных глицином, наблюдалось снижение уровня продуктов ПОЛ, наиболее выраженное при его использовании в дозах 1–2 г/сут ($p < 0,05$ по сравнению с плацебо). У тяжелобольных во всех исследованных группах сохранялась тенденция к дальнейшему нарастанию концентрации продуктов ПОЛ к 3-м суткам, однако степень этого нарастания была значительно меньше на фоне лечения глицином ($p < 0,05$ по сравнению с плацебо): на 1,58 % при приеме в дозе 1–2 г/сут, на 45 % — 0,5 г/сут, на 68,3 % — 1 г/сут по сравнению с плацебо (табл. 14.8).

Таблица 14.8. Динамика концентрации вторичных продуктов ПОЛ (ТБКРП) (в наномолях на 1 мл) в спинномозговой жидкости больных с ишемическим инсультом (мг/ч)

Инсульт средней тяжести				
	$n = 31$	$n = 29$	$n = 60$	
Первые 6 ч	$3,03 \pm 0,7$	$3,02 \pm 0,55$	$2,82 \pm 0,8^*$	
3-и сутки	$3,95 \pm 0,94$	$2,48 \pm 1,2$	$1,48 \pm 0,54$	
Тяжелый инсульт				
	$n = 19$	$n = 20$	$n = 41$	
Первые 6 ч	$3,29 \pm 1,4$	$3,1 \pm 1,3$	$2,86 \pm 1,4$	
3-и сутки	$5,54 \pm 1,8$	$4,5 \pm 0,5$	$3,42 \pm 1,8^*$	

Примечание. * Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$.

Таким образом, впервые проведенное рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование подтвердило безопасность фармацевтического препарата глицина, отсутствие у него значимых побочных эффектов, что соответствует ранее полученным результатам [11] и может быть объяснено естественной природой данного регулятора обмена веществ мозга. Применяемые дозы глицина не оказывали статистически значимого действия на параметры ЭКГ и гемореологические показатели.

Установлено, что сублингвальное использование глицина в дозе 1–2 г/сут в течение 5 дней после начала заболевания способствует сниже-

нию летальности и уменьшению выраженности функционального дефекта: увеличивается количество больных с полным восстановлением нарушенных неврологических функций или их умеренным ограничением (индекс Бартела более 70 баллов). На фоне лечения глицином существенно улучшается клиническая динамика, ускоряется регресс неврологического дефицита к 6-м суткам заболевания (по окончании терапии глицином) и к концу острого периода инсульта. Особенно важно отметить положительный эффект глицина при лечении тяжелобольных, принимая во внимание тот факт, что пациенты с инсультом средней тяжести могут иметь «спонтанное» восстановление неврологических функций (независимо от лечения).

Увеличенный уровень аутоантител к *NMDA* рецепторам был определен у всех обследованных больных уже в первые 3–6 ч после развития инсульта, до наиболее высоких значений при тяжелом течении заболевания. Нарастание титра аутоантител, по-видимому, связано с проникновением фрагментов *NMDA* рецепторов, поврежденных избытком экстрацеллюлярного глутамата, через гематоэнцефалический барьер и последующей индукцией нормального иммунного ответа организма (рис. 4.3). В предыдущих исследованиях [5] продемонстрирована корреляция степени повышения уровня аутоантител к *NMDA* рецепторам с тяжестью ишемического инсульта и выраженностью неврологического дефицита. Было показано, что устойчивая нормализация уровня аутоантител к 3-м суткам заболевания является предиктором наиболее полного восстановления нарушенных неврологических функций и благоприятного исхода. Ранняя достоверная нормализация титра аутоантител к *NMDA* рецепторам при применении глицина в дозе 1–2 г/сут коррелировала наиболее выраженной у тяжелобольных и коррелировала с лучшим результатом регрессом неврологического дефицита, что отражало улучшение функционального состояния глутаматных *NMDA* рецепторов, возникавшее вследствие уменьшения глутаматной «эксайтотоксичности».

Регулирующее действие глицина на баланс аминокислотных медиаторов и уменьшение выраженности глутаматной «эксайтотоксичности» подтвердил анализ содержания нейротрансмиттерных аминокислот в cerebrospinalной жидкости. Установленное в первые часы ишемического инсульта повышение концентрации возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата и аспартата) соответствовало полученным ранее результатам [19, 20] (рис. 4.1.1). Использование глицина в дозе 1–2 г/сут вызвало не только достоверное снижение уровня глутамата и аспартата, но и значительное увеличение концентрации ГАМК к 3-м суткам заболевания. Интересно, что на фоне лечения глицином в дозе 1–2 г/сут у тяжелобольных регистрировали статистически достоверное уменьшение концентрации глицина в cerebrospinalной жидкости. Можно предположить, что данная реакция отражает тенденцию к нормализации аминокислотного метаболизма в ткани мозга: повышение уровня внутриклеточного глицина с интенсификацией его участия в анаболических клеточных процессах.

Проведенное исследование не только позволило установить нейротрансмиттерные эффекты фармакологического препарата глицина, но и подтвердить его общеметаболическое действие. Введение глицина в дозе 1–2 г/сут приводило к статистически значимому снижению уровня вторичных продуктов ПОЛ у больных с инсультом средней тяжести и замедлению развития оксидантного стресса при тяжелом инсульте.

14.5.2. Влияние глицина на функциональное состояние мозга у больных с каротидным ишемическим инсультом

Влияние глицина на функциональное состояние надсегментарных двигательных и чувствительных систем мозга, неспецифических церебральных образований и сегментарно-периферического нейромоторного аппарата изучали у 80 больных (45 мужчин и 35 женщин; средний возраст $63,5 \pm 9,7$ года) в остром периоде ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии (левой — в 41 случае, правой — в 39). Проводили нейрофизиологическое мониторирование: ЭЭГ с топоселективным картированием (ТСК ЭЭГ), исследование соматосенсорных вызванных потенциалов головного мозга (ССВП) с их картированием (ТСК ССВП), чрескожную транскраниальную кортикальную электростимуляцию, электронейромиографию (ЭНМГ). Клиническая характеристика и методы оценки состояния больных соответствовали приведенным в разделе 14.5.1. При поступлении в клинику у 50 (62 %) из 80 больных определено состояние сознания, у 30 (38 %) — тяжёлов. В первые 6 ч заболевания 40 больных начали лечение глицином, 40 — плацебо. С учетом результатов дополнительного исследования эффективности глицина назначали препарат в оптимальной суточной дозе — 1 г. Обследование осуществляли при поступлении больного в клинику, на фоне первого применения препарата (глицина или плацебо) и в течение последующих 4 ч после него, затем повторно — на 6-е сутки (по окончании курса лечения).

Мониторирование ЭЭГ и ТСК ЭЭГ проводили на универсальном нейрофизиологическом анализаторе «Brain Surveyor» фирмы «S. Iso» (Италия) с автономным блоком усилителей. Исходный сигнал ЭЭГ проводили по стандартной методике [8]. Фоновую ЭЭГ регистрировали в течение 4—5 мин до картирования, во время картирования и в течение 1,5 мин после его окончания. При записи ЭЭГ использовали биполярные и монополярные отведения с помощью 16 электродов на скальпе по международной системе «10—20» (J. Montevideo, 1958) в положении больного лежа с закрытыми глазами в изолированной заземленной камере. В качестве референтных применяли гомолатеральные ушные электроды. ТСК ЭЭГ проводили с эпохой анализа 1 мин в течение 3—5 мин. Контролем служили показатели ТСК ЭЭГ 26 здоровых добровольцев.

Исследование ССВП осуществляли на нейрофизиологических анализаторах «Basis» фирмы «O.T. & Biol. Med.» (Италия) и «Brain Surveyor» фирмы «S. Iso» (Италия). Короткие вызванные ССВП регистрировали при помощи дисковых коллоидных электродов для контактной системы чести головы и одноразовых поверхностных электродов по специализированной программе из стандартного пакета «Library 4» (фирма «O.T. & Biol. Med.»). Активный электрод первого канала помещали контралатерально стимуляции, на 2 см позади точки C_2 , соответствующей международной системе «10—20», второго — над остистым отростком VII шейного позвонка; третьего — на точку Эрба, ипсилатерально стимуляции. Референтные электроды первого и второго каналов фиксировали в точке F_7 , третьего канала — на противоположном стимуляции плече, в зоне сегментов C_4 — C_5 . Электрод «земли» помещали на верхней трети предплечья, контралатерально стимуляции. Стимуляцию срединного нерва осуществляли кожным стандартным биполярным вилочковым электродом, который располагали на 2 см проксимальнее поперечной связки запястья, между сухожилиями лучевого сгибателя кисти и поверхностного сгибателя пальцев. Для записи ССВП применяли 200—250 усреднений ответа. Таким образом, по первому каналу регистрировали таламокортикальный комплекс ($N-20$), по второму — комплекс ядер задних рогов спинного мозга ($N-13$), по третьему — комплекс волокон срединного нерва и плечевого сплетения ($N-10$) [36]. Разность латентных периодов пиков $N-13$ и $N-20$ (в миллисекундах) соответствовала времени

центрального афферентного проведения (ВЦАП) от сегментарных чувствительных образований шейного утолщения до противоположного таламокортикального комплекса. Контролем служили средние величины показателей ССВП, полученные в группе 19 здоровых добровольцев.

ТСК ССВП проводили на нейрофизиологическом анализаторе «Brain Surveyor» (фирма «Salco», Италия). Распределение ССВП на диаграмме скальпа изучали по 16 каналам записи. Использовали специализированную программу «Evoked potentials» из стандартного пакета программ «Mapping Library». Наряду с определением величин латентностей (в миллисекундах), амплитуд пиков (в микровольтах), величин межпиковых интервалов (в миллисекундах), ТСК ССВП позволяло выявить особенности распределения амплитудных характеристик компонентов на диаграмме скальпа. В качестве контроля использовали результаты обследования 20 практически здоровых лиц.

Чрескожная транскраниальная кортикальная электростимуляция была применена для определения функционального состояния быстропроводящих фазических волокон пирамидного тракта. Исследование проводили на нейрофизиологическом анализаторе «Basis» (фирма «O.T.E. Biomedica», Италия) с блоком для проведения электрической кортикальной стимуляции. Использовали более физиологичный монополярный метод стимуляции, при котором активный электрод — располагали в точке, соответствующей корковой моторной зоне руки (на 1 см латеральнее точки Cz и на 1 см впереди от линии, соединяющей точку Cz с точкой ушной раковины), а референтный катод перикраниально. Выраженность болевых ощущений у пациентов снижали при помощи создания низкого электрического сопротивления (до 3 кОм) и минимальной длительности электрических импульсов (0,05 мс). Стимуляцию проводили путем подачи на электроды электрического тока прямоугольной формы интенсивностью 70—86 мкА. Центральные мышечный потенциал (ЦМП) регистрировали при помощи накожного биополярного электрода, наложенного на возвышение большого пальца руки контралатерально стимуляции, перпендикулярно проекции волокон корковой мышцы, приводящей большой палец (по возможности при умеренном треморе мышц ее напряжении). Параметры ЦМП анализировали после усреднения 10—15 отведений. Учитывали минимальные величины латентных периодов и максимальные величины амплитуд ЦМП. Сопоставление величин латентных периодов ЦМП и полученных при раздражении срединных нервов М-ответа и времени отведения в мышце (с того же регистрирующего электрода) позволяло определить величину центрального эфферентного проведения (ВЦЭП) от пирамидных клеток моторной зоны коры до периферических мотонейронов противоположной половины соответствующего сегмента спинного мозга:

$$\text{ВЦЭП} = \text{ЦМП} - (M + F - I) / 2,$$

где ЦМП, M и F соответственно, — латентным периодам центрального мышечного потенциала, М-ответа и F-волны, I — время центральной синаптической задержки (в миллисекундах). В качестве контроля использовали величины амплитуд ЦМП и ВЦЭП, полученные при обследовании 22 здоровых лиц.

Кольцевое ЭПМ исследование проводили на нейрофизиологическом анализаторе «Basis» (фирма «O.T.E. Biomedica», Италия) по стандартной методике [1]. Определяли форму, латентный период, длительность, максимальную амплитуду М-ответов в мышцах кисти и стопы при стимуляции периферических нервов в дистальных точках. Потенциалы действия нервов регистрировали кольцевыми пальцевыми электродами при стимуляции ствола нерва, определяли их форму, амплитуду, латентный период. Скорость проведения импульса по двигательным и чувствительным волокнам нервов оценивали по методикам Hodes [91] и Mavor, Shiazawa [1].

Влияние глицина на спонтанную биоэлектрическую активность мозга отчетливо проявлялось уже через 3—5 мин после его первого приема в виде увеличения мощности α - и β -частотных диапазонов в обеих полушариях мозга. При этом отмечалась тенденция к сглаживанию имеющейся изначально межполушарной асимметрии и ускорению частотных характеристик ритмов. Через 10—30 мин мониторингирования регистрировали достоверное

нарастание мощности α -активности в затылочных отделах мозга, значительно выраженное в пораженном полушарии, а также умеренное диффузное увеличение мощности медленной активности, преимущественно θ -диапазона. К концу 1-го часа мониторингирования у 36 (90 %) из 40 больных отмечалась выраженная нормализация паттерна ЭЭГ: энергетический уровень медленной активности снижился, достоверно повышался α -индекс не только в здоровом, но и в пораженном полушарии мозга, уменьшалась представленность межполушарной асимметрии в затылочных отведениях. В группе получавших плацебо изменения ЭЭГ носили случайный, разнонаправленный характер. Значимых тенденций в течение 4 ч мониторингирования зарегистрировано не было.

Статистическое сопоставление картграмм ЭЭГ у больных, получавших глицин, в 1-е (до приема препарата) и 6-е (по окончании курса) сутки позволило установить достоверное уменьшение мощности медленных частотных диапазонов ($p < 0,01-0,0001$) диффузно, практически по всем отведениям обоих полушарий (рис. 14.3), клиническим коррелятом чего являлись регресс нарушений сознания, других общемозговых симптомов и признаков отека мозга, общая активизация больных. Следует отметить, что при левополушарной локализации инсульта данная позитивная динамика была более выражена, чем при правополушарной, и проявлялась более равномерно в обоих полушариях мозга. У больных с правополушарной локализацией очага ишемии снижение мощности медленной активности преобладало в «интактном» (левом) полушарии. Сравнение картграмм ЭЭГ в аналогичных по тяжести группах больных, получавших глицин и плацебо, выявило достоверные различия мощностей медленных диапазонов на 6-е сутки после развития инсульта (при исходной сопоставимости показателей в 1-е сутки) (рис. 14.4). В группе лечившихся глицином достоверно меньше ($p < 0,001$) была выражена δ - и θ -активность в обоих полушариях, особенно на стороне ишемии.

Важное значение имел тот факт, что при лечении глицином у 68 % больных средней тяжести (17 из 25) и 50 % тяжелобольных (5 из 15) не наблюдалось формирования очага медленной δ — θ -активности в проекции очага ишемии. Наличие такого очага на 5—7-е сутки после развития инсульта являлось характерным для всех тяжелобольных и 60 % пациентов с инсультом средней тяжести, получавших плацебо, что свидетельствовало о развитии необратимых морфологических изменений в ткани мозга и стойком функциональном дефиците.

Статистический анализ динамики α -активности на фоне лечения глицином (к 6-м суткам) в группе больных с инсультом средней тяжести подтвердил тенденцию нормализации ее зонального распределения и уменьшению выраженности межполушарной асимметрии. При тяжелых инсультах отмечалось достоверное увеличение мощности α -диапазона в затылочных отведениях, преимущественно ишемизированного полушария ($p < 0,05-0,01$; рис. 14.5). Сопоставление количественных характеристик α -диапазона на 6-е сутки заболевания в аналогичных по тяжести группах с применением глицина и плацебо выявило достоверно более высокие значения ($p < 0,05$) α -индекса в пораженном полушарии мозга у больных, лечившихся глицином (рис. 14.6).

Изучение функционального состояния центральных эфферентных и афферентных проводящих систем мозга в течение острого периода ишемического инсульта позволило объективизировать влияние глицина на выраженность двигательных и чувствительных нарушений и темпы их регресса (табл. 14.9).

Т а б л и ц а 14.8. Динамика времени центрального афферентного (ВЦАП) и центрального афферентного (ВЦАП) проведения у больных с короткими мышечными инсультами (М:м)

ВЦАП, мс	Средней тяжести	Группы					
		Группа I (n = 24)	Группа II (n = 24)	Группа III (n = 24)	Группа IV (n = 24)	Группа V (n = 24)	Группа VI (n = 24)
Тяжелое	Группа I (n = 14)	5,73±0,57	5,30±0,38	5,53±0,24	5,16±0,48	5,25±0,49*	4,82±0,35
	Пациенты (n = 24)	5,12±0,40*	5,31±0,58	5,23±0,51	5,37±0,81	6,63±0,62*	4,16±0,41
	Группа II (n = 14)	8,42±0,87	4,24±0,53	5,76±0,91**	3,36±0,36	5,04±0,39**	4,29±0,62
	Пациенты (n = 16)	7,38±1,16	3,92±0,27	7,60±0,97	3,75±0,41	8,76±1,03	3,45±0,7
Средней тяжести	Группа I (n = 26)	5,72±0,59	5,31±0,5	5,52±0,40	6,65±0,38	5,47±0,26*	5,96±0,30
	Пациенты (n = 24)	4,87±0,39	5,83±0,51	4,30±0,45	5,73±0,70	6,73±0,30**	5,84±0,61
	Группа II (n = 14)	5,36±0,1	5,46±0,54	5,82±0,57	5,89±0,82	6,37±0,28*	5,24±0,18
	Пациенты (n = 16)	5,49±0,76	5,82±0,62	5,11±0,05	6,03±0,73	6,43±0,28*	5,89±0,50

Примечания. 1. Достоверность различий с группой пациентов: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,05$. 2. Достоверность различий с показателями при первом исследовании: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,05$.

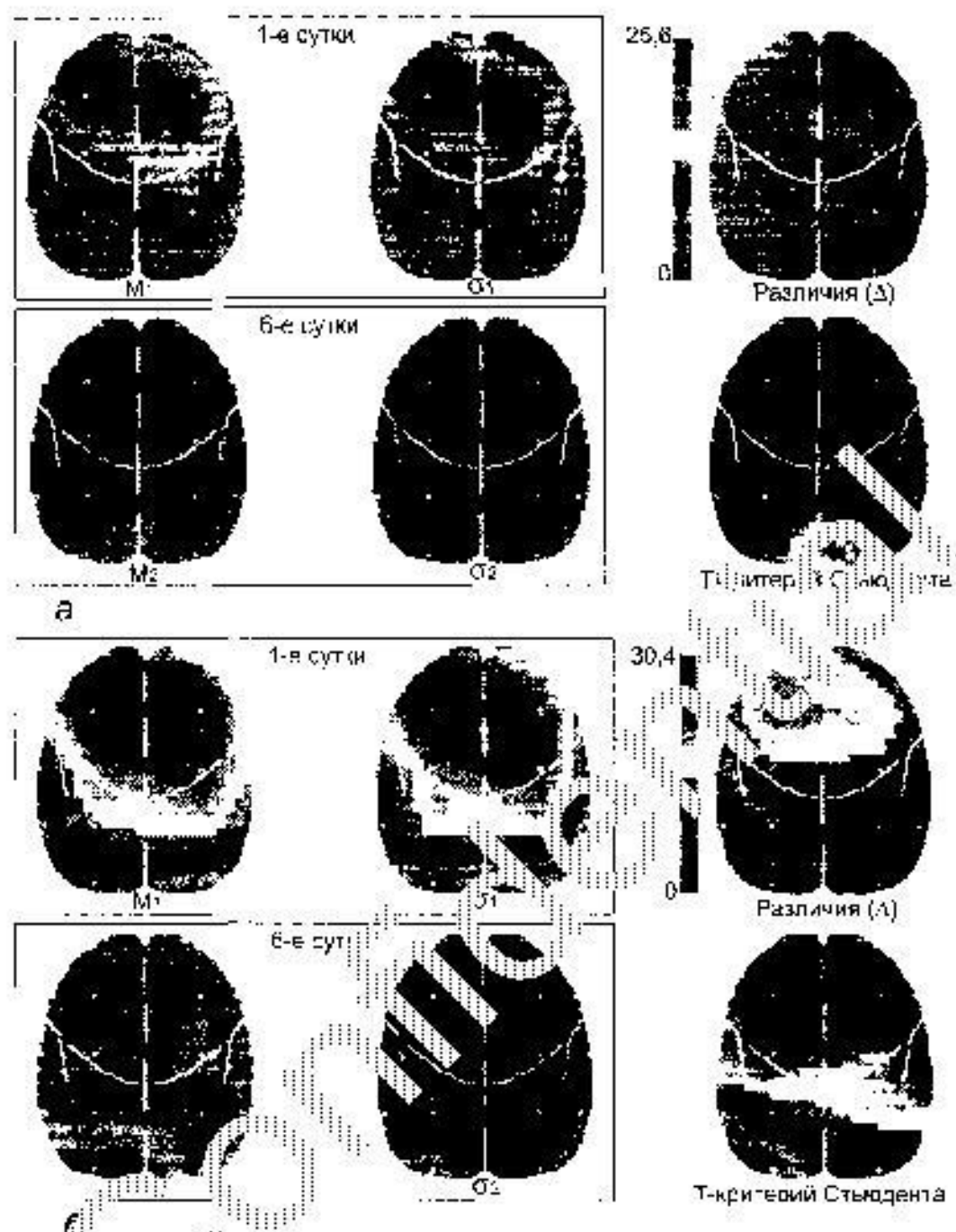


Рис. 14.3 Статистическое сравнение усредненных картограмм ЭЭГ в δ - и θ -диапазонах у больных с латерополушарным ишемическим инсультом до (1-е сутки) и после (6-е сутки) лечения глицином.

а — δ -диапазон; б — θ -диапазон. Здесь и на рис. 14.4–14.6: M_1 и M_2 — усредненные картограммы; σ_1 и σ_2 — стандартные отклонения.

Уже после 1-го приема глицина у больных наблюдалась тенденция к ускорению эфферентного проведений (сокращение времени центрального эфферентного проведения — ВЦЭП) на стороне как ишемизированного, так и «интактного» полушария. Ускорение было наиболее выражено и достоверно ($p < 0,05$) у тяжелобольных с исходно высокими значениями ВЦЭП (замедление эфферентного проведения). К 6-м суткам на фоне лечения глицином отмечалась нормализация ВЦЭП на стороне очага ишемии, что

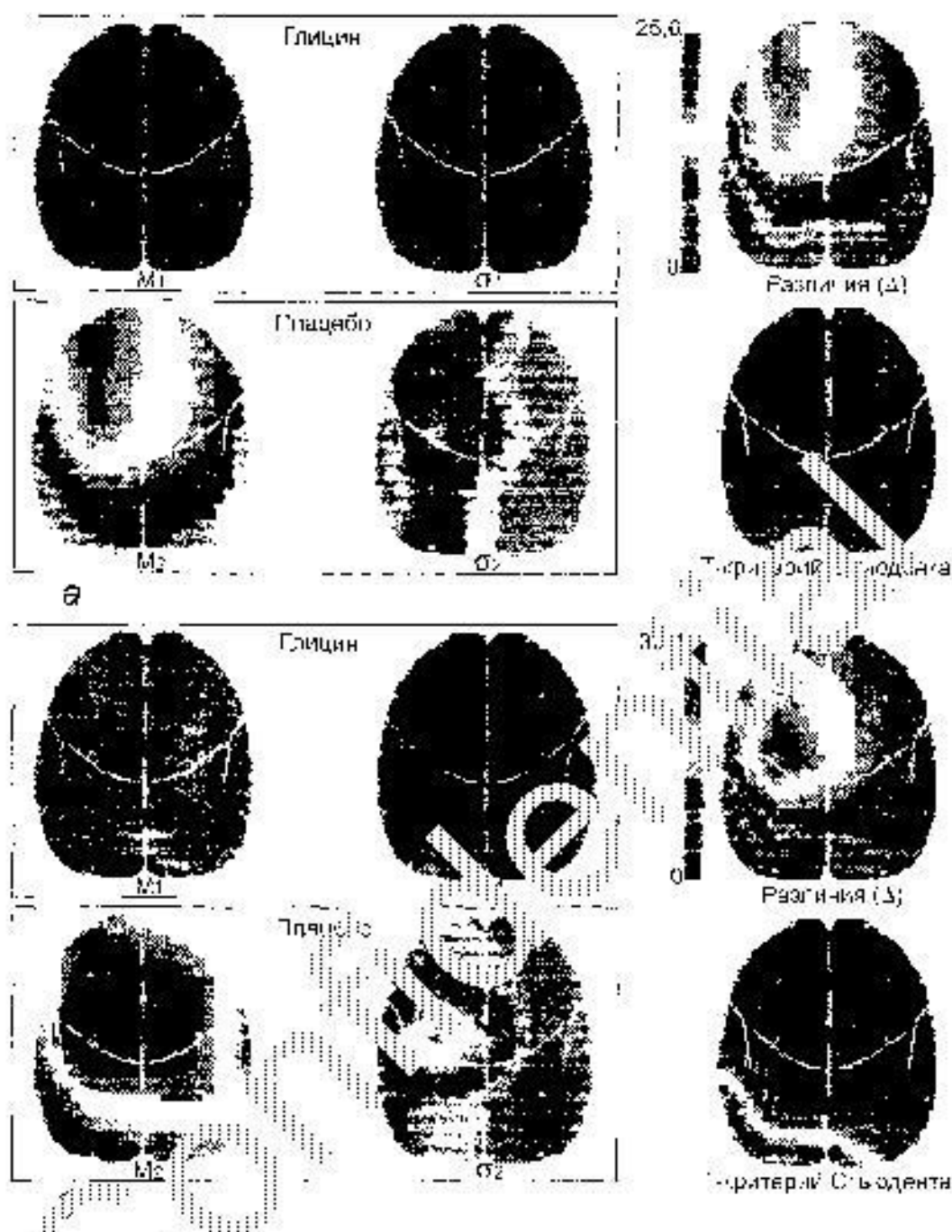


Рис. 1.4. Статистическое сравнение усредненных картограмм ЭЭГ в δ - и θ -диапазонах на 1-е сутки периполушарного ишемического инсульта у больных, леченных глицином и плацебо.

а — δ -диапазон; б — θ -диапазон.

позволяло прогнозировать хорошее восстановление нарушенных двигательных функций и предшествовало наиболее полному регрессу пареза [3, 10, 17]. В то же время в соответствующих по тяжести группах «плацебо» к 6-м суткам заболевания асимметрия ВЦЭП сохранялась (и даже усугублялась у больных с инсультом средней тяжести) за счет замедления проведения на стороне ишемизированного полушария. Это свидетельствовало о формировании стойкой морфологической перестройки в быстропроводящих фазических волокнах пирамидного тракта.

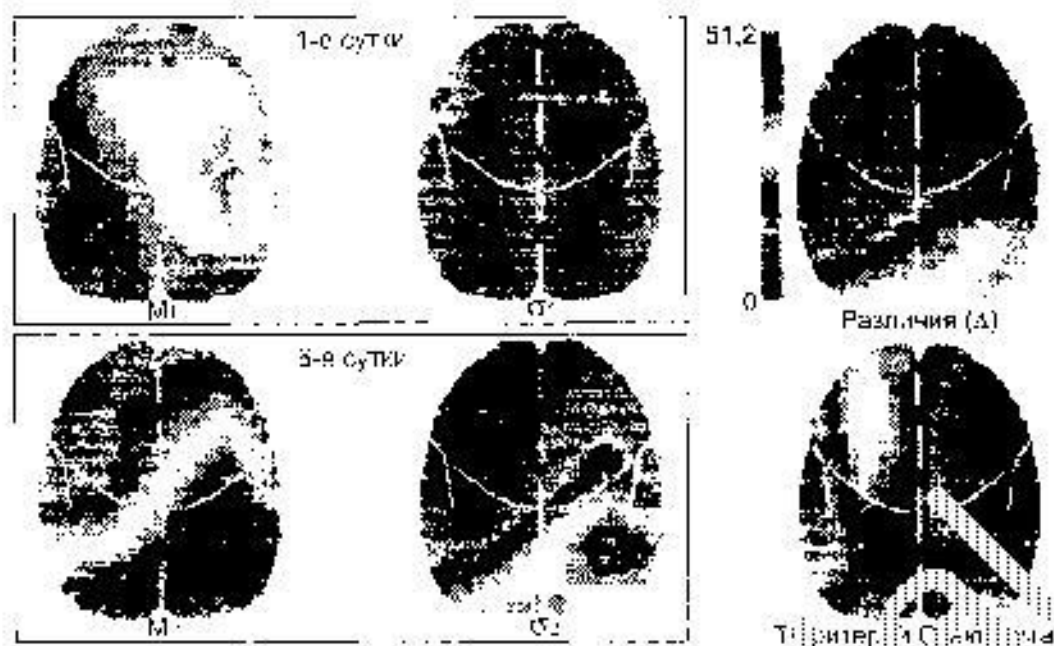


Рис. 14.5. Статистическое сравнение усредненных карт ритмов α_1 в α -диапазоне у больных с левополушарным ишемическим инсультом до (1-е сутки) и после (6-е сутки) лечения глицином.

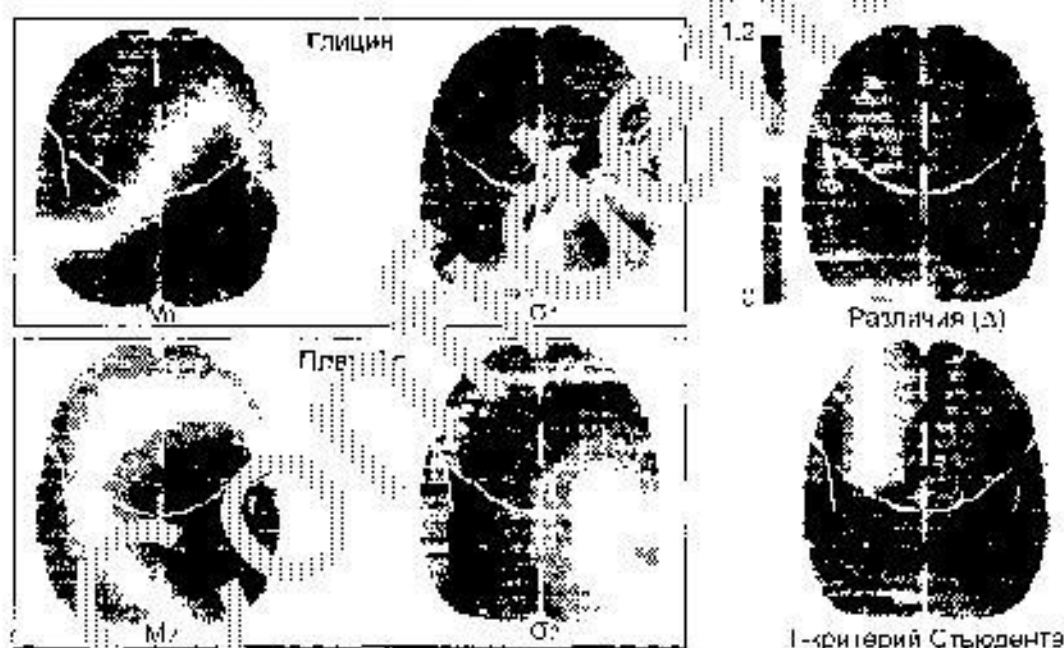


Рис. 14.6. Статистическое сравнение усредненных картogramм ЭЭГ в α -диапазоне на 6-е сутки левополушарного ишемического инсульта у больных, леченных глицином и плацебо.

Влияние глицина на центральное афферентное проведение преобладало в группе больных с инсультом средней тяжести и проявлялось преломлением фазы «афферентного замедления» (увеличение времени центрального афферентного проведения – ВЦАП) на стороне ишемии. В группе «плацебо» эта фаза развивалась на 5–7-е сутки заболевания ($p < 0.01$; см. табл. 14.9). Положительная динамика ВЦАП предшествовала наиболее полному клиническому восстановлению чувствительных функций [10, 17].

Вместе с тем у тяжелобольных, получавших глицин или плацебо, различий в динамике ВЦАП не выявлено.

Исследование функционального состояния сегментарно-периферического нейромоторного аппарата с помощью ЭНМГ показало, что при исходной (до лечения) сопоставимости величин скорости проведения по срединным, локтевым, большеберцовым и малоберцовым нервам в группах больных, принимавших глицин и плацебо, к концу острого периода инсульта средней тяжести определялась более полная нормализация проведения по двигательным и чувствительным волокнам на фоне лечения глицином ($p < 0,05$ по сравнению с плацебо). У тяжелобольных на фоне первого приема препарата регистрировалось статистически значимое ускорение проведения по двигательным волокнам ($p < 0,05$), однако дальнейшая динамика эфферентного и афферентного проведения значимо не отличалась от аналогичной в группе «плацебо» ($p > 0,05$).

Таким образом, мониторинг нейрофизиологический контроль объективизировал позитивное влияние глицина на функциональное состояние головного мозга у больных с каротидным ишемическим инсультом. При анализе динамики спонтанной биоэлектрической активности мозга установлена достоверно более полная и ускоренная нормализация паттерна ЭЭГ к 6-м суткам заболевания у больных, леченных глицином. Это проявлялось значительным уменьшением мощности диффузной общемозговой медленной активности, снижением локальной представленности δ - и θ -волн в проекции ишемизированной области мозга (в ряде случаев с полным предотвращением развития фокуса θ -деятельности), нарастанием мощности α -активности с нормализацией ее заднего распределения и регрессом межполушарной асимметрии. Глициновая нормализация паттерна ЭЭГ имеет особую значимость, так как позволяет прогнозировать благоприятный исход инсульта с хорошим восстановлением нарушенных неврологических функций [3, 17, 20].

Исследование ССВП и транскраниальная транскраниальная кортикальная электростимуляция установили достоверное благоприятное действие глицина на процессы центрального эфферентного проведения у больных с инсультом разной тяжести. Ускоренного афферентного проведения при инсульте средней тяжести, что, по данным предшествующих работ [3, 17], коррелирует с ускоренным клиническим регрессом двигательных и чувствительных очаговых нарушений и позволяет прогнозировать хорошее функциональное восстановление.

Объективный количественный анализ нейрофизиологических показателей выявил некоторое преобладание позитивных эффектов глицина при локализации ишемического очага в левом полушарии большого мозга.

14.5.3. Особенности действия глицина в остром периоде вертебрально-базилярного ишемического инсульта

Подтверждение безопасности и объективизация нейропротективного действия глицина в остром периоде полушарного ишемического инсульта создали предпосылки для изучения его эффектов при остром нарушении мозгового кровообращения в вертебрально-базилярной системе [9, 17].

При обследовании более 200 больных с ишемическим вертебрально-базилярным инсультом было установлено, что такие больные поступают в клинику в более поздние сроки, чем пациенты с полушарной локализацией

ишемии. Это, по-видимому, связано с наличием у больных предшествующей хронической недостаточности мозгового кровообращения в вертебрально-базиллярной системе и недооценкой произошедших в состоянии изменений. В связи с этим были несколько видоизменены критерии «включения» больных с вертебрально-базиллярным инсультом в исследование (см. раздел 14.1.1): допускался 12-часовой временной диапазон от момента развития заболевания до госпитализации.

После проведения КТ головного мозга исследуемую популяцию составили 100 больных (60 мужчин и 40 женщин; средний возраст $57,7 \pm 9,7$ года) в остром периоде вертебрально-базиллярного ишемического инсульта, поступившие в неврологическую клинику Российского государственного медицинского университета не позднее первых 12 ч от начала заболевания. Протокол исследования был согласован с Этическим комитетом университета. Больных включали в исследование после получения их (или их представителей) устного или письменного согласия.

Ведущим этиологическим фактором инсульта явилось сочетание атеросклероза сосудов головного мозга и артериальной гипертензии (67 из 100; 67 %). У 25 (25 %) молодых больных инсульт развился на фоне гипертонической болезни, у 8 (8 %) — на фоне церебрального атеросклероза без повышения АД. Сердечно-сосудистая патология в сочетании с остеохондрозом шейного отдела позвоночника выявлена у 93 (93 %) больных. Преобладали больные с острым развитием заболевания. В 65 (65 %) наблюдений максимальное проявление клинических симптомов острого течения 1-го часа, в 24 (24 %) — в течение 2–4 ч (подострое развитие). У 11 (11 %) больных определялось постепенное, в течение нескольких суток, нарастание неврологической симптоматики. Комплексное исследование, включавшее экстра- и транскраниальную ультразвуковую доплерографию, МРТ с ангиографическим режимом, изучение реологических и свертывающих свойств крови и др., верифицировало в большинстве (83 %) случаев атеротромботическое поражение сосудов вертебрально-базиллярной системы: в экстракраниальных отделах — у 49, интракраниальных — у 34 больных, причем в 15 случаях отмечались нарастающие тромбозы основной и позвоночных артерий. В 17 (17 %) случаях инсульты развивались по эмболическому типу на фоне мерцательной аритмии у 12 больных с постинфарктным кардиосклерозом и у 6 больных ревматическим пороком сердца. Наряду с этим у 6 (8 %) пациентов была выявлена патологическая извитость позвоночной артерии, в 10 (13,3 %) случаях — сдавление позвоночных артерий остеофитами шейных позвонков, усиливающееся при поворотах головы, что могло способствовать развитию заболевания.

Анализ клинических проявлений показал, что у всех больных с вертебрально-базиллярными инсультами (даже при ограниченных очагах поражения ствола мозга), с первых часов заболевания наблюдались признаки двусторонней функциональной недостаточности стволово-мозжечковых структур. Диффузность поражения была наиболее выраженной при инсультах с верифицированными с помощью ультразвуковой доплерографии нарушениями кровотока в экстракраниальных отделах артерий вертебрально-базиллярной системы.

Особенности клинического течения вертебрально-базиллярного инсульта определялись преимущественно состоянием системной и локальной гемодинамики. Наиболее благоприятно протекали инсульты при стенозировании или патологической извитости позвоночных артерий в экстракраниальном отделе, когда создавались наилучшие возможности для компенсации мозгового кровотока через включение артериальных

коллатералей. Интракраниальное тромботическое или эмболическое поражение артерий приводило к более быстрому формированию стойкого морфологического дефекта. Наиболее тяжело протекали нарастающие тромбозы интракраниальных артерий вертебрально-базиллярной системы. Усугубляли тяжесть клинических проявлений инсульта сопутствующие кардиальные нарушения (ишемическая болезнь сердца, постинфарктный кардиосклероз) и связанные с ними колебания системной гемодинамики.

При поступлении в клинику больным рандомизированно назначали глицин (сублингвально) в суточной дозе 1 г (40 больным), семакс (см. раздел 15.5.1.5) или плацебо (35 больным). Лечение препаратами проводили на протяжении 5 дней заболевания на фоне унифицированной «фоковой» терапии, включавшей гемодилюцию, низкие дозы гепарина (при необходимости), аспирина и осмотические диуретики (при необходимости). Другие нейропротективные препараты в лечении не использовали.

Базисная оценка состояния больных включала общее и неврологическое обследование, анализ данных ЭКГ, клинических и биохимических анализов крови и цереброспинальной жидкости. КТ головного мозга проводили в первые 24 ч после развития инсульта. Для объективной оценки тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита использовали оригинальную клиническую шкалу [4]. Неврологический статус оценивали при поступлении, по окончании лечения глицином (на 6-й день) и в конце исследования (на 30-е сутки). Мониторинг артериального АД, частоты сердечных сокращений и ЭКГ проводили в течение первых 6 ч после начала терапии и на 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 21-й и 30-й сутки.

По этиологическим факторам, особенностям течения заболевания, срокам госпитализации, возрастному и половому составу группы больных были сопоставимы.

Для мониторингового контроля эталоном функционального состояния ствола мозга осуществляли комплексное нейробиологическое исследование, включавшее транскраниальную транскраниальную магнитную стимуляцию, изучение коротколатентных слуховых вызванных потенциалов на акустическую стимуляцию, электроэнцефалографию (исследование V, VII, XII черепных нервов). Весь комплекс методов проводили в первые часы развития инсульта (при поступлении больного в клинику), через 40–50 мин после 1-го приема препарата, а также на 6-е сутки заболевания.

Для изучения реакции на магнитную стимуляцию использовали нейробиологический анализатор «Vox» (фирма «O.T.E. Biomedica», Италия) и магнитный стимулятор «Magnet» (фирма «Novametric», Великобритания). Оценивали амплитуду (в микровольтах), длительность (в миллисекундах), число фаз мышечных потенциалов. Время центрального эфферентного проведения (ВЦЭП в миллисекундах) рассчитывали как разность латентных периодов мышечных потенциалов при стимуляции моторной зоны коры и двигательных корешков сегмента C₇.

Исследование коротколатентных слуховых вызванных потенциалов на акустическую стимуляцию осуществляли на универсальном нейробиологическом анализаторе «Vox» (фирма «O.T.E. Biomedica», Италия) методом моноауральной стимуляции короткими щелчками (100 мкс), интенсивностью 70 дБ, частотой 10 Гц, с эпохой анализа 10 мс. Усредняли 3000 ответов при стимуляции с каждой стороны. Регистрацию проводили дважды. Измеряли абсолютные значения латентностей (в миллисекундах) и амплитуд (в микровольтах) компонентов, межпиковых интервалов (в миллисекундах), показатели соотношения амплитуд пиков, асимметрии амплитуд. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц с неизмененным слухом.

Сегментарные структуры ствола мозга оценивали электроэнцефалографически по методике Л.О. Бадаляна и И.А. Скворцова [1]. Мигательный рефлекс вызывали по методике Л.Р. Зенкова с соавт. [8]. Оценивали форму, латентный период, длительность, амплитуду раннего и позднего компонентов мигательного рефлекса.

Методы статистической обработки изложены в разделе 14.5.1.

На протяжении всего исследования не было выявлено побочных эффектов глицина, не зарегистрировано его действия на показатели гемодинамики и реологии крови.

Ретроспективный клинический анализ свидетельствовал об умеренно выраженном благоприятном влиянии глицина на клинический исход инсульта и темпы восстановительной динамики, особенно при наиболее раннем его назначении — в течение первых 6 ч заболевания. В этих случаях уже после 1-го приема препарата отмечалось уменьшение степени общемоозговых нарушений, в том числе расстройств сознания.

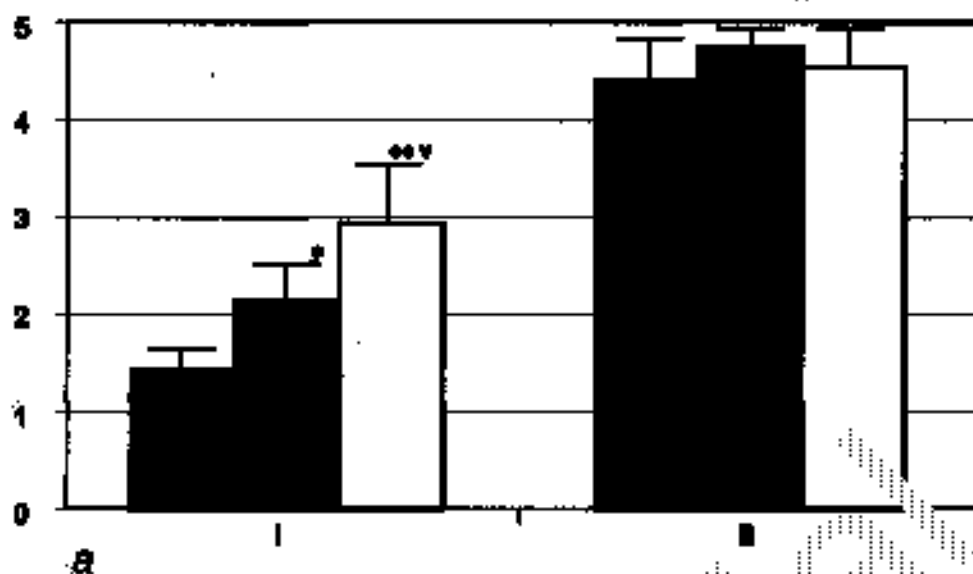
К концу курса лечения (на 6-е сутки) установлено достоверное улучшение неврологического статуса, оцениваемого по оригинальной шкале как у тяжелобольных, так и у больных с инсультом средней тяжести ($p < 0,05$ по сравнению с аналогичными по тяжести группами «плацебо» (рис. 14.7). Наибольшие отличия от показателей в группе «плацебо» были обнаружены в подгруппах больных, лечение которых было начато в течение 6 ч после развития инсульта ($p < 0,01$ для тяжелобольных). В то же время к 30-м суткам заболевания у больных, принимавших глицин, не отмечалось достоверного улучшения исхода заболевания по сравнению с показателями в группе «плацебо» ($p > 0,05$). Летальность в группах принимавших глицин и плацебо также значимо не различалась: 12,5 % (5 из 40) и 17,1 % (6 из 35) соответственно ($p > 0,05$).

Оценка динамики отдельных симптомов выявила статистически значимое ускорение восстановительных динамических функций (роторных ($p < 0,05$) и двигательных ($p < 0,05$) функций) на фоне применения глицина по сравнению с группой «плацебо», причем наиболее значимыми различия были между группами тяжелобольных.

Для оценки влияния глицина на функциональное состояние полисинаптических кортико-стволово-спинальных систем применяли транскраниальную кортикальную магнитную стимуляцию. У всех больных с первых часов заболевания была зарегистрирована асимметрия ВЦЭП с замедлением проведения (увеличение ВЦЭП) на стороне клинически выявляемой пирамидной недостаточности, при этом отсутствовала корреляция между выраженностью пареза и величиной ВЦЭП. Близкие значения ВЦЭП регистрировали у больных, не имевших пареза (лишь с рефлекторной и тонусной асимметрией), и у пациентов с выраженным снижением мышечной силы. Вместе с тем достоверная прямая корреляционная связь была установлена между ВЦЭП и выраженностью изменений мышечного тонуса в 1-е сутки после развития инсульта (рис. 14.8), что представляется закономерным в связи с влиянием магнитной стимуляции на полисинаптические проводящие системы, участвующие в реализации тоногенных и трофических процессов [9].

Мониторный контроль за действием глицина выявил его нормализующее действие на показатели центрального эфферентного проведения, которое было особенно выраженным при тяжелом течении инсульта. Уже после 1-го приема глицина у тяжелобольных отмечали уменьшение ВЦЭП (ускорение проведения) на стороне поражения на 31,2 % ($p < 0,05$ по сравнению с результатом 1-го, до назначения препарата, исследования и с группой «пла-

Δ Суммарного
клинического
балла



Δ Суммарного
клинического
балла

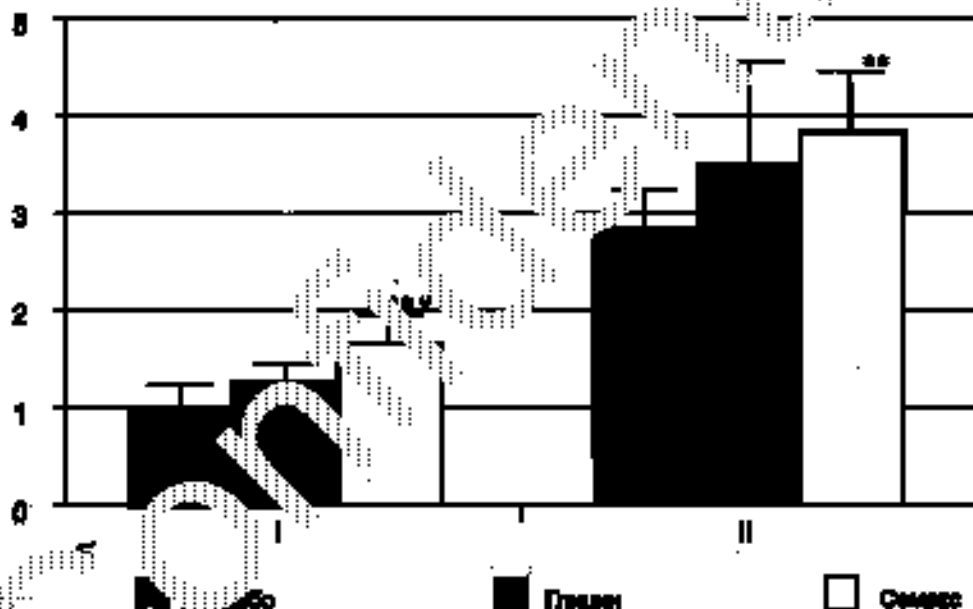


Рис. 14. Динамика суммарного клинического балла к 6-м и 30-м суткам вертебрально-базиллярного инсульта у больных с состоянием средней тяжести (а) и тяжелым (б).

I — 6-е сутки; II — 30-е сутки. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$; достоверность различий с группой больных, леченных глицином: v — $p < 0,05$.

цебо»). У больных с инсультом средней тяжести динамика ВЦЭП на фоне 1-го приема препарата не была статистически значима. Наиболее благоприятное действие глицин оказывал при тяжелых инсультах с грубыми нарушениями мышечного тонуса и исходно максимальным замедлением центрального эфферентного проведения. В этих случаях к 6-м суткам заболевания

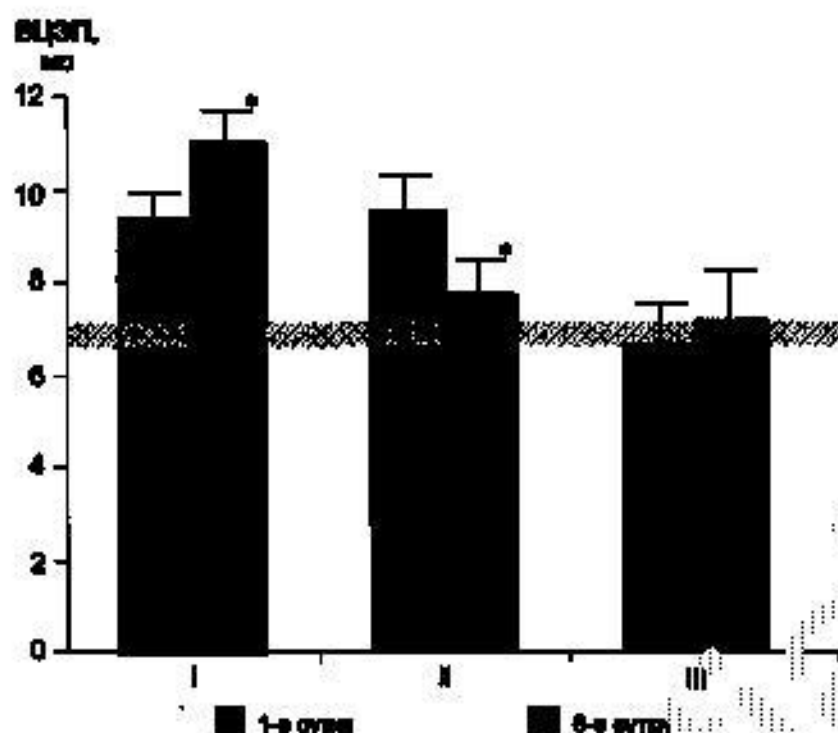


Рис. 14.8. Изменения ВЦЭП на стороне ишемии в 3-х пациентах в зависимости от выраженности нарушений мышечного тонуса.

I — повышение мышечного тонуса по пластинчато-мускульному титру; II — выраженная мышечная гипотония; III — без значимых изменений мышечного тонуса. Штрихованная область — норма. Достоверность различий по сравнению с показателем «1-й путь»: * — $p < 0,05$.

наблюдалась полная нормализация функционального состояния двигательных полисиннаптических проводящих путей (по показателям ВЦЭП), тогда как в аналогичной по тяжести группе «плацебо» замедление проведения не только сохранялось, но и усугублялось (рис. 14.9).

Исследование коротколатентных стволовых вызванных потенциалов на акустическую стимуляцию не выявило достоверного влияния глицина на функциональное состояние слуховой сенсорной системы. Это согласовывалось с данными предыдущего испытания препарата при каротидном ишемическом инсульте (см. раздел 14.1.1), свидетельствовавшими о превалировании действия на эфферентные по сравнению с афферентными структуры.

У больных с признаками сегментарного поражения V, VII черепных нервов глицин ускорял нормализацию латентного периода раннего компонента мигающего рефлекса ($p < 0,05$ по сравнению с группой «плацебо»), что предшествовало более полному и быстрому восстановлению функций нервов.

Таким образом, проведенное при вертебрально-базиллярном ишемическом инсульте рандомизированное плацебо-контролируемое исследование подтвердило безопасность и хорошую переносимость фармацевтического препарата глицина. Установлено, что его сублингвальное использование в дозе 1 г/сут в течение первых 5 дней заболевания оказывает умеренное благоприятное влияние на темпы и выраженность восстановительной динамики, особенно при раннем назначении — в первые 6 ч от развития клинических симптомов. Позитивное действие глицина у больных с вертебрально-базиллярным инсультом было менее значимым, чем при поражении сонных

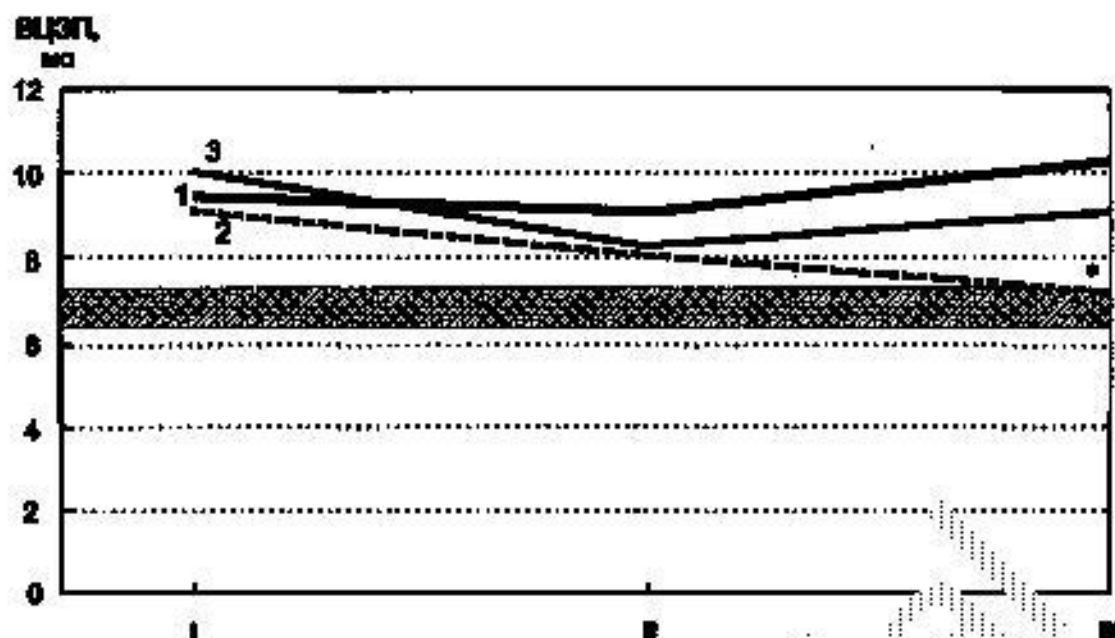


Рис. 14.2. Влияние глицина и омепразола на ВЦЭП у больных с вертебрально-базилярным инсультом.

1 — плацебо; 2 — глицин; 3 — омепразол. I — до введения препарата; II — после первого введения; III — на 6-е сутки после развития инсульта. Заштрихованная область — норма. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0.01$.

артерий, и не сопровождалось снижением показателей летальности в исследованной группе. Как и при дооперационной локализации инсульта, нейропротективное действие глицина наиболее выражено у тяжелобольных и проявлялось прежде всего ускоренным регрессом общемозговых и двигательных (координаторных, пирамидных, телусных) нарушений. Нейрофизиологическое мониторирование специализировало преобладающее влияние препарата на эфферентные проводящие системы.

Итак, результаты комплексных проведенных рандомизированных исследований свидетельствуют о преимущественной эффективности глицина в первые часы и дни развития ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии. Суолингвальное применение препарата в суточной дозе 1–2 г, начиная с первых 6 ч от начала полушарного инсульта и на протяжении последующих 5 дней, полностью безопасно и оказывает положительное влияние на клинический исход заболевания: снижает показатели 30-дневной летальности, улучшает восстановление нарушенных неврологических функций.

Полиmodalное нейрофизиологическое мониторирование продемонстрировало достоверное позитивное действие глицина на функциональное состояние специализированных (двигательных и в меньшей степени чувствительных) и неспецифических структур мозга, проявляющееся не только его нормализацией, но и предотвращением формирования стойкого функционального дефекта.

Результаты иммунобиохимических исследований подтвердили комплексное нейропротективное влияние препарата, направленное на устране-

ние дисбаланса между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами (снижение глутаматной «эксайтотоксичности», стимуляция естественных защитных тормозных систем мозга) и уменьшение выраженности процессов оксидантного стресса.

Нейропротективные эффекты глицина при вертебрально-базиллярном инсульте оказались менее выраженными, хотя препарат и оказывал определенное благоприятное действие на регресс общемозговых и очаговых (координаторных, пирамидных, тонусных) неврологических нарушений, особенно в случаях его раннего (в первые 6—12 ч) применения. Важно подчеркнуть преобладание эффективности глицина при тяжелом инсульте, независимо от его локализации и варианта развития.

Можно предположить, что большая диффузность, частая мозжичность поражения при вертебрально-базиллярном инсульте, сильная зависимость его клинических проявлений от гемодинамического фактора могут снижать значимость нейропротективной терапии при этой локализации ишемического процесса. Однако результаты испытания глицина свидетельствуют о возможности создания с помощью нейропротектора благоприятного фона для максимальной реализации эффектов реперфузионной терапии.

Первые позитивные результаты применения глицина при ишемическом инсульте создают предпосылки для организации мультицентровых его испытаний.

Литература

1. Бадалян Л.О., Скорцов И.А. Клиническая электроэнцефалография. — М.: Медицина, 1986: 386.
2. Бадиков В.И., Гитель Е.П., Иванова Н.А. и др. Бюл. экспер биол и мед 1990; 110 (9): 236—237.
3. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга: Актовая речь. — М., 1992.
4. Гусев Е.И., Скорцова В.И. Книга благодарностей и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990.
5. Гусев Е.И., Скорцова В.И., Рыбачук С. и др. Определение содержания нейротрансмиттерных аминокислот в ликворе у больных с острым ишемическим инсультом. — В кн.: Функциональные исследования как основа создания лекарственных средств. — М., 1995, 133—134.
6. Гусев Е.И., Скорцова В.И., Рыбачук С. и др. Журн неврол и психиатр 1996; 5: 68—72.
7. Гусев Е.И., Скорцова В.И., Коваленко А.В., Соколов М.А. Журн неврол и психиатр 1999; 2: 65—70.
8. Зенков Л.Р., Ронкин М.А. Функциональная диагностика нервных болезней. — М.: Медицина, 1991; 432.
9. Камулина Т.А. Клинико-электрофизиологическое мониторирование функционального состояния мозга и метаболическая терапия в остром периоде ишемического вертебрально-базиллярного инсульта: Дисс. канд. мед. наук. — М., 1997.
10. Коваленко А.В. Функциональное состояние эфферентной и афферентной проводящих систем головного мозга в остром периоде ишемического инсульта на фоне приема метаболически активных препаратов: Дисс. канд. мед. наук. — М., 1992; 205.
11. Камысарова И.А., Гудкова Ю.А., Солдатенкова Т.Д. и др. Медицинский препарат антистрессового, стресс-протекторного и ноотропного действия. Патент РФ. Изобретения, открытия. 1992, 2025124.
12. Лаурецкая Е.Ф. Фармакологическая регуляция умственных процессов. — М., 1985.
13. Раковский К.С., Георгиев В.П. Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты. — М., 1986; 240.

14. Раевский К.С., Романова Г.А., Кудрин В.С. и др. Бюлл экспер биол и мед 1997; 123 (4): 370—373.
15. Сергеев П.В., Шимановский Н.Д. Рецепторы физиологически активных веществ. — М., Медицина, 1987; 560.
16. Сергеев П.В., Шимановский Н.Д., Петров В.И. Рецепторы. — М. — Волгоград, 1999; 640.
17. Скорцова В.И. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1993; 379.
18. Скорцова В.И., Гусев Е.И., Комиссарова И.А. и др. Журн неврол и психиатр 1995; 1: 11—19.
19. Скорцова В.И., Раевский К.С., Коваленко А.В. и др. Журн неврол и психиатр 1999; 2: 34—39.
20. Фидлер С.М. Клиника-нейрофизиологическое изучение функционального состояния головного мозга в остром периоде полушарного ишемического инсульта: Дисс. канд. мед. наук. — М., 1993; 263.
21. Abel M.S., McCandless D.W. J Neurochem 1992; 58: 740—744.
22. Albers G.W., Saenz R.E., Masses J.A., Choi D.W. Stroke 1991; 22: 1075—1077.
23. Albers G.W., Atkinson R.P., Kelley R.E., Rosenbaum D.M. Stroke 1991; 22: 254—258.
24. Albers G.W., Clark W.M., Atkinson R.P. et al. Stroke 1999; 30 (3): 518—523.
25. Allen G.S., Ahn H.S., Preziosi T.J. et al. New Engl J Med 1990; 30: 619—624.
26. Aronowski J., Strong R., Gratta J.C. Neuropharmacology 1996; 35: 689—693.
27. Azcona A., Lataste X. Grugs 1990; 40 (2): 52—57.
28. Barnard E.A., Darlison M.G., Seebury P. Trends Neurosci 1988; 10: 502—509.
29. Beaughard M., Michelin M., Massingham R. Effect of the putative glycine antagonist HA-966 on the neurological and histological changes induced by transient global ischemia in rats and gerbils. In: Pharmacology of Cerebral Ischemia (Kriegstein J., Oberpichler H. eds.). Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 1990; 275—280.
30. Berridge M.J. Triangi 1985; 3: 4: 79—80.
31. Boast C.A., Gergard S.C., Paxson G. et al. Brain Res 1988; 442: 395—398.
32. Bridgers S.L., Koch G., Murtha C. et al. Stroke 1991; 22: 153.
33. Buchan A.M. Cerebrovasc Brain Metabol Rev 1990; 2: 1—26.
34. Buchan A.M., Hui L., Pulsinone W.A. Neurosci 1991; 11: 1049.
35. Buchan A.M., Xue D., Spitzer A. et al. 1989; 15: 804.
36. Buchan A.M., Lestak H., Barakat K.L. et al. Stroke 1993; 24 (1): 1148—1152.
37. Busa W.B., Nuccitelli L. Am J Physiol 1984; 246: 409—438.
38. Carter A.J. Drugs Future 1992; 17: 595—613.
39. Castillo J., Dawson A., Noya M. Lancet 1997; 349: 79—83.
40. Chen J., Chou S.H., Toroni R., Simon R.P. J Pharmacol Exp Ther 1993; 267: 937—941.
41. Chizhnikov I.V., Kishin N.I., Krishtal O.A. et al. Neurosci Lett 1989 Apr 24; 99 (12): 131—136.
42. Choi D.W. Cerebrovasc Brain Metabol Rev 1990; 2: 105—137.
43. Coull B.M. Randomized trial of CGS 19755, a glutamate antagonist, in acute ischemic stroke treatment. Abstract to the American Academy of Neurology annual meeting 1994.
44. Croucher M.J., Bradford H.F. Brain Res 1991; 543: 91—96.
45. Culmsee C., Junker V., Watz P. et al. Eur J Pharmacol 1998; 342 (1): 93—201.
46. Curtis D.R., Hoist L., Johnston G.A.R., Johnston I.H. Exp Brain Res 1968; 6: 1—18.
47. Dambinova S.A. Immunosorbent for diagnosis of epilepsy and group risk. European Patent Bulletin, 1993; 93/69 WO 93/00586.
48. Davalos A., Naveiro J., Noya M. Stroke 1996; 27: 1060—1065.
49. Davis S.M., Albers G.W., Diener H.C. et al. Lancet 1997; 349: 32.
50. Desbordes J.M., Ales P.E., Gigliari M. Aggressologie 1989; 30: 438—440.
51. Diener H.C. Cerebrovasc Dis 1998; 8: 172—181.

52. Diener H.C. *Stroke* 1999; 30: 234.
53. Diener H.C., Hacke W., Hennerich M. et al. *Stroke* 1996; 27: 76–81.
54. Dunwiddie T.V. *Int Rev Neurobiol* 1985; 27: 63–139.
55. Edwards K. and the CNS 1102-008 Study Group. *Neurology* 1996; 46 (1): 424.
56. Elsen A., Steward J., Nadelman K. et al. *Neurology* 1979; 29: 827.
57. Erccinska M., Nelson D., Wilson D.R. et al. *Brain Res* 1984; 304: 19–23.
58. Fagg G.E., Foster A.C. *Neurosci* 1983; 96: 701–719.
59. Farber L., Chlen K., Mittnacht S. *Ann J Pathol* 1981; 102: 271–281.
60. Ferrarese C., Appollonio F., Frigo M. et al. *Neurology* 1989; 39 (3): 443–445.
61. Fisher M.A. *Cerebrovasc Dis* 1991; 1(1): 112–119.
62. Fisher M. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 245.
63. Fisher M. *Eur Neurol* 1995; 35: 3–7.
64. Fisher M. *Stroke* 1997; 28: 866–872.
65. Fisher M. *The neuroscientist* 1999; 6: 392401.
66. Fredholm B.B., Dunwiddie T.V. *Trends Pharmacol Sci* 1988; 9: 130–134.
67. Gelmers H.J. *Acta Neurol Scand* 1984; 69: 232–239.
68. Gelmers H.J., Gorter K., De Weert C.J., Wiezer H.J.A. *New Engl J Med* 1988; 318: 203–207.
69. George C.P., Goldberg M.P., Choi D.W., Steinberg J.K. *Brain Res* 1985; 340: 375–379.
70. Gill R., Hagreaves R.J., Kemp J.A. *J Cereb Blood Flow Metab* 1985; 5: 197–204.
71. Ginsberg M.D., Globus M.Y.T.,usto R. et al. The potential of combination pharmacotherapy in cerebral ischemia In: *Pharmacology of Cerebral Ischemia* (Kriegstein J., Oberpichler H. eds.). Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH 1990; 499–510.
72. Giroux C., Scotton B. *Eur Neurol* 1996; 36 (2): 61–64.
73. Gotoh O., Mohamed A., McCulloch J. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1986; 6: 321–331.
74. Gotti B., Benavides J., McKenzie E.T., Schwab D. *Brain Res* 1990; 522: 290–307.
75. Graham S.H., Chen J., Lan J. et al. *J Pharmacol Ther* 1994; 269: 854–859.
76. Granger C.V., Hamilton B.R., Graham T.E. et al. *Arch Phys Med Rehabil* 1989; 70: 100–103.
77. Green A.R., Cross A.J., Snape J.C., Stone J.J. *Neurosci Lett* 1992; 138: 141–144.
78. Greenberg J.H., Uematsu D., et al. *Stroke* 1990; 21 (4): 72–77.
79. Grotta J. *Stroke* 1994; 25: 55.
80. Grotta J. *Stroke* 1997; 28: 138–146.
81. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6 (2): 44.
82. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Radvsky K.S. et al. *Eur J Neurol* 1997; 4 (1): 78.
83. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Burd G.S. et al. *J Neurol Sci* 1997; 150: 81–82.
84. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. *Cerebrovasc Dis* 2000; 10 (1): 49–60.
85. Hammarstad J.F., Murray J.E., Culter R.W.P. *Brain Res* 1971; 35: 357–367.
86. Hanson J., West T. *Stroke* 1998; 29: 287.
87. Harrison N.L., Ammonds M.A. *Br J Pharmacol* 1985; 84: 381–391.
88. Hasegawa Y., Fisher M., Baron B.M., Metcalf G. *Stroke* 1994; 25: 1241–1246.
89. Heiss W.D., Holthoff V., Pawlik G., Neveling M. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990; 10: 127–132.
90. Henderson G., Johnson J., Ascher P. *J Physiol* 1990; 430: 189–212.
91. Hodes R., Larrabee M.G., German W. *Arch Neurol Psychiat* 1948; 60: 340–365.
92. Hopkin J., Neal M.J. *Br J Pharmacol* 1971; 42: 215–223.
93. Horn J., Haas R., Vermuelen M., Limburg M. *Stroke* 1999; 30: 242.
94. Hassman K.A. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1996; 8: 195–208.
95. Izumi Y., Raussel S., Pinard E., Seylaz J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 11: 1025–1030.
96. James T.A., Starr M.S. *Eur J Pharmacol* 1979; 57: 115–125.
97. Jan M., Buchheit F., Tremoulet M. *Neurosurgery* 1988; 23: 154–157.

98. Johnson J.W., Ascher P. *Nature* 1987; 325: 529-531.
99. Jones M.G., Szatkowski M.S. *Neurosci Lett* 1995; 201 (3): 227-230.
100. Keinänen K., Wisden W., Sommer B. et al. *Science* 1990; 259: 556-560.
101. Kelly J.S., Krnjević K., Morris M.E., Yim G.K.W. *Exp Brain Res* 1969; 7: 11-31.
102. Kemp J.A., Leeson P.D. *Trends Pharmacol Sci.* 1993; 14: 20-25.
103. Kleckner N.W., Dingledine R. *Science* 1988; 24: 835.
104. Kochhar A., Zivin J.A., Lyden P.D., Mazarella V. *Arch Neurol* 1988; 45: 148-153.
105. Koek W., Woods J.H., Winger G.D. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 245: 969-974.
106. Koh J., Goldberg M.P., Hartley D.M., Choi D.W. *J Neurosci* 1990; 10: 693-705.
107. Lapin I.P. *Eur J Pharmacol* 1981; 71: 495-498.
108. Lataste X., Maurer W., Whitehead J. et al. Application of sequential methods of clinical trial in stroke: The Asclepios Study. 2nd World Congress of Stroke 1992; 16.
109. Leach M.J., Swan J.H., Eisenhal D. et al. *Stroke* 1993; 24: 1063-1067.
110. Lees K.R. *Neurology* 1997; 49 (4): 66-69.
111. Lees K.R. *Lancet* 1998; 351: 1447-1448.
112. Lees K.R., Lavelle J.F., Hobbinger S.F. *Cerebrovasc Dis* 1998; 8: 2.
113. Lesage A.S., de Loore K.L., Olskowska-Evers B. et al. *Soc Neurosci Abstr* 1994; 20: 185.
114. Leung L.W.S., Desborough K.A. *Brain Res* 1988; 463: 148-152.
115. Limburg M. *Stroke* 1996; 27: 172.
116. Limburg M., Hydra A. *Eur Neurol* 1990; 30: 121-127.
117. Loscher W., Wlaz P., Rundfeldt C. et al. *J Pharmacol* 1994; 4: 109-106.
118. Lyden P.D. GABA and Neuroprotection. In: *Neuroprotective Agents and Cerebral Ischemia* (Green A.R., Cross A.J., eds.). London, Academic Press Limited 1997; 233-258.
119. Mabe H., Nagai H., Takagi T. et al. *Stroke* 1986; 17: 501-505.
120. Mahoney F.I., Barthel D.W. *Med. State Med.* 1965; 14: 61-65.
121. Mayor F., Valdivieso F., Ugar M. *J Amine Ac Neurotransmitters Advanced in Biochemical Psychopharmacology* 1991; 29: 55-56.
122. McDonald J.W., Silverstein F.S., Johnson M. *Neurosci Lett* 1990; 109: 234-238.
123. Meadows M.E., Fisher M., Minematsu K. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 26-31.
124. Meden P., Overgaard K., Soregry T., Boyse G. *J Neurosci* 1993; 119: 209-216.
125. Meister A. *Biochemistry of the Amino Acids*. New York 1957.
126. Meldrum B.S. Excitotoxicity in ischemia: An overview. In: *Cerebrovasc Dis - 16th Research Conf*, New York, Raven Press 1989; 47-60.
127. Meldrum B.S., Swan J.H., Lynch J.J. et al. *Brain Res* 1992; 593: 1-6.
128. Minematsu K., Fisher M., Li L. et al. *Neurology* 1993; 43: 397-403.
129. Mohr J.P., Orgogozo J.M., Harrison M.J.G. et al. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 197-203.
130. Muir K.W., Lees K.R. Initial experience with remacemide hydrochloride in patients with acute ischemic stroke. 2nd Int Conf Neuroprotect Agents. New York 1994.
131. Muir K.W., Lees K.R. *Ann NY Acad Sci* 1995; 765: 315-316.
132. Muir K.W., Lees K.R. *Stroke* 1995; 26: 503-513.
133. Muir K.W., Lees K.R. *Stroke* 1995; 26: 1183-1188.
134. Muir K.W., Lees K.R. *Cerebrovasc dis* 1996; 6: 75-383.
135. Muir K.W., Lees K.R., Hamilton S.J.C. et al. *Ann NY Acad Sci* 1995; 765: 328-329.
136. Norris J.W., LeBrun L.B., Anderson B.A. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 194-196.
137. Nowak L., Bregustovski P., Ascher P. *Nature* 1984; 307: 462-465.
138. Obrenovitch T.P., Hardy A.M., Urenjak J. *Brain Res* 1997; 746 (12): 190-194.
139. Obrenovitch T.P., Urenjak J., Zilkha E. *Br J Pharmacol* 1994; 113 (4): 1295-1302.
140. Olskowski W.J., Hachinski V., Bogouslavsky J. et al. *Stroke* 1989; 20: 604-608.
141. Ohtawa H., Ohtsui N., Yagi K. *Analyt. Biochem.* 1995; 95: 351-355.
142. Olman J., Hetskanen O. *J Neurosurg* 1988; 69: 683-688.
143. Olney J.W., Labruyere J., Price M.T. *Science* 1989; 244: 1360-1362.
144. Onal M.Z., Fisher M. *Drugs of today* 1996; 32 (7): 573-592.
145. Onal M.Z., Fisher M. *Eur Neurol* 1997; 38: 141-154.
146. O'Neill M., Allain H., Bentue-Ferrer D. et al. *Eur Neurol* 1995; 35 (1): 28-36.

147. Orgogozo J.M., Darigues J.F. In: Acute Brain Ischemia. Medical and Surgical Therapy (Battistini N. ed.). New York, Raven Press 1986; 282-289.
148. Osborne R.H., Bradford H.F., Jones D.G. J Neurochir 1973; 21: 407-419.
149. Ozyurt E., Graham D.I., Woodruff G.N., McCulloch J. J Cereb Blood Flow Metab 1988; 8: 138-143.
150. Park C.K., Nehls D.G., Tensdale G.M., McCulloch J. J Cereb Blood Flow Metab 1989; 9: 617-622.
151. Park C.K., Nehls D.G., Graham D.I. et al. Ann Neurol 1988; 24: 543-551.
152. Park C.K., Nehls D.G., Graham D.I. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1988; 8: 757-762.
153. Patel J., Zinkand W.C., Thompson C. et al. J Neurochem 1990; 54: 849-854.
154. Peterson S.L. Eur J Pharmacol 1991; 199: 341-348.
155. Peterson S.L., Boehnke L.E. Exp Neurol 1989; 104: 113-117.
156. Peterson S.L., Schwade N.D. Epilepsy Res 1993; 15: 141-148.
157. Petruk K.C., West M., Mohr G. et al. J Neurosurg 1988; 68: 505-517.
158. Philippon J., Grob R., Dagueau F. et al. Acta Neurochir (Wien) 1986; 82: 110-114.
159. Pickard J.D., Murray G.D., Illingworth R. et al. Br Med J 1989; 298: 637-642.
160. Pignatelli H., Nowicky J.P., Scatton B. Brain Res 1992; 596: 320-324.
161. Prange H., Hartung J., Hertel G. et al. Treatment of acute stroke with flunarizine i.v. Int Conf on Stroke, Geneva, Switzerland 1991; 39.
162. Priestley T., Horne A.L., McKernan R.M. et al. Brain Res 1990; 531: 153-158.
163. Romanova G.A., Kudrin V.S., Malikova L.A. Pharmacol Res 1991; 31: 127-131.
164. Sauter A., Wiederhold K.H., Rudin M. Stroke 1990; 21 (1): 15-18.
165. Scandinavian Stroke Study Group Stroke 1985; 16: 885-890.
166. Schanne F.A., Young E.E., Farber J.L. et al. Science 1976; 190: 700-702.
167. Scheinberg P. Neurology 1991; 41: 1867-1873.
168. Scheller D., Kolb J., Szathmari S. et al. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15 (1): 379.
169. Scolnick P., Marvizon J., Jackson B. et al. Life Sci 1989; 45: 1647-1655.
170. Shuaib A., Hasan S., Kalra J. Brain Res 1992; 596: 17-17.
171. Stesjo B.K. J Cereb Blood Flow Metab 1991; 11: 55-85.
172. Stesjo B.K. Eur Neurol 1986; 25 (1): 45-50.
173. Sills M.A., Loo P.S. Mol Pharmacol 1989; 36: 160-165.
174. Silver B., Weber J., Fisher M. Clin Neuropharmacol 1995; 19 (2): 101-128.
175. Smith S.E., Lektorsky D., Sowa J.P., Mew J.B.S. Neuroreport 1993; 4: 1339-1342.
176. Snape M.F., Baldwin H.A., Craven A.J., Green A.R. Neuroscience 1993; 53: 837-844.
177. Stark L., Peterson S.L., Peterson T.E. In: Kindling 4 (Wada J.A. ed.). New York, Raven Press 1990; 267-271.
178. Steinberg G.K., Saleh J., Jants D. Neurosci Lett 1988; 89: 193-197.
179. Steinberg G.K., George C.F., DeLaPaz R. et al. Stroke 1988; 19: 1112-1118.
180. Steinberg G.K., Saleh J., Jants D. et al. Stroke 1989; 20: 1247-1252.
181. Strand T., Witter D. et al. A double blind randomized pilot trial of magnesium therapy in acute cerebral infarction. 7th Nordic Meeting on Cerebrovasc Dis 1993; 37.
182. Sydes S.G., Croft A.J., Green A.R. Neurodegeneration 1993; 4: 323-328.
183. Synthesio Recherche 1996; Press Release, Paris, February 6.
184. Takano T., Tattisimak T., Formato J. et al. Stroke 1997; 28: 1255-1262.
185. Tattisimak T., Takano K., Meiler M.R., Fisher M. Stroke 1998; 29: 190-195.
186. Thomson A.M. Prog Neurobiol 1990; 35: 53-74.
187. Tietjen G.E., Dombi T., Pulsinelli W.A. et al. Neurology 1996; 46 (1): 424.
188. Toth E., Lajtha A., Sarhan S. et al. Neurochem Res 1983; 8: 291-302.
189. Trickbank M.D., Saywell K. Soc Neurosci Abstr 1990; 16: 462.
190. Tridgett R., Foster A.C. Br J Pharmacol 1988; 85: 890.
191. Tsuda T., Kogure K., Nishio K., Watanabe T. Neuroscience 1991; 44: 335-341.
192. Turzki L., Huth A., Sheardown M. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 10960-10965.
193. Uematsu D., Greenberg J.H., Hickey W.F., Reivich M. Stroke 1989; 20: 1531-1537.
194. van den Kerckhoff W., Rovers L.R. J Cereb Blood Flow Metab 1985; 5: 459-460.
195. von Lubitz D.K.J.E., Lin R.C.-S., McKenzie R.J. et al. Eur J Pharmacol 1992; 219: 153-158.

196. Vorstrup S., Persen A., Blegvad N., Paulson O.B. *J Cereb Blood Flow Metab* 1986; 6: 222—229.
197. Wahlgren N.G. Cytoprotective therapy for acute ischaemic stroke. In: *Stroke Therapy* (Fisher M. ed.). Boston, Butterworth & Heinemann 1995; 315—350.
198. Wahlgren N.G., *Clomethiazole Acute Stroke Study Collaborative Group*. *Cerebrovasc Dis* 1997; 7 (4): 19.
199. Wahlgren N.G., *Clomethiazole Acute Stroke Study Collaborative Group*. *Cerebrovasc Dis* 1998; 8: 20.
200. Wahlgren N.G., MacMahon D., De Keyser J. et al. *Cerebrovasc Dis* 1994; 4: 204—210.
201. Wahlgren N.G., Rawasinha K.W., Rosolacci T. et al. *Stroke* 1999; 30: 21—28.
202. Warkins J.C., Olverman H.J. *Trends Neurosci* 1987; 10: 265—272.
203. Warner D.S., Martin H., Ludwig P. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 188—196.
204. Wiersperger N., Gyax P., Hofmann A. *Stroke* 1984; 15: 679—685.
205. Williams K., Romano C., Dichter M.A., Mollnoff P.B. *Life Sci* 1991; 48: 469—498.
206. Williams R. In: *Biogenesis of natural compounds* (Dernfeld R. ed.). New York 1963; 368—404.
207. Wong M.L., Bongiorno P.B., Gield P.W., Licinio J. *Neuroimmunomodulation* 1995; 2: 141—148.
208. Wong E.H., Kemp J.A., Priestley T. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7104—7108.

ных радикалов и препараты, разрушающие перекиси (с сульфидными и тиоловыми группами): унитиол, тиосульфат-натрий и др. Вслед за этим рекомендовано назначение токоферолов и каротиноидов, связывающих катализаторы и инактивирующих синглетный кислород. В последние десятилетия стало традиционным включение унитиола и токоферола (витамин Е, в том числе в комбинированной форме — аевит), в комплекс интенсивной терапии ишемического инсульта. Однако при специальном изучении «вклада» этих препаратов в общий результат лечения не выявлено их выраженного нейропротективного действия, а была продемонстрирована лишь тенденция к более благоприятному течению заболевания [19—21, 56, 57].

В настоящее время к потенциальным нейропротекторам, используемым при ишемии мозга, относят также ферменты супероксиддисмутазу (СОД) и каталазу, глутатион, лазарониды, хелаты железа, фенил-*t*-бутилнитрон [192, 242]. В экспериментальных исследованиях доказано наличие нейропротективных свойств у препаратов, связывающих свободные радикалы, — достоверное уменьшение размеров инфаркта мозга на фоне их применения [162, 252], что обосновало необходимость клинических испытаний этих антиоксидантов.

Тирилазад (tirilazad mesylate) — 21-аминостероид, действует как «ловушка» свободных радикалов и ингибитор перекисного окисления липидов. Препарат ограничивает инфарктную зону в экспериментальной транзиторной фокальной ишемией мозга [252]. Рандомизированное исследование эффектов тирилазада, примененного в трех суточных дозах (0,3, 3 и 6 мг/кг) при лечении 111 больных с ишемическим инсультом, показало его безопасность (*STIPAS investigators*, 1994). В пилотном исследовании эффективности тирилазада при субарахноидальном кровоизлиянии [117] выявлены снижение летальности и увеличение доли больных с полным восстановлением нарушенных неврологических функций на протяжении лечения препаратом. В настоящее время закончены 6 клинических исследований тирилазада, объединяющих 1757 больных [104]. Результаты клинического изучения эффективности внутривенной формы препарата в суточной дозе 6 мг/кг у 414 больных с ишемическим инсультом при начале терапии в первые 6 ч заболевания, не подтвердили его положительного влияния на течение и исход инсульта: частота благоприятных исходов (по шкале исходов Глазго) составила 48,1 % по сравнению с 51 % в группе «плацебо» ($p > 0,05$), хорошее функциональное восстановление (по шкале Бартела) отмечено в 50,9 и 55 % случаев соответственно; $p > 0,05$ [100]. В аналогичном исследовании, проведенном у 556 больных, также не выявлено эффективности препарата [200, 209, 228]. Попытки увеличить эффект тирилазада [131, 171, 193] не увенчались успехом из-за появления побочных эффектов.

Фенил-*t*-бутилнитроны (phenyl-*t*-butyl-nitrones, PBN) — «ловушки» свободных радикалов, образующие с ними стабильные нитроксиды. При экспериментальной церебральной ишемии *PBN* уменьшают выраженность цитотоксического отека мозга и степень нейронального повреждения в СА₁ зоне гиппокампа [90, 215, 255].

Высвобождение оксида азота и пероксинитрита может быть замедлено блокаторами синтазы оксида азота. Селективные блокаторы нейрональной *NO*-синтазы 7-нитроиндазол и 1-(2-фторометилфенил)-имидазол достоверно уменьшают размер инфарктной зоны после фокальной и глобальной церебральной ишемии у животных [110, 190]. Относительно селективная блокада вызванной *INO*-синтазы аминоксидинами также оказывает мощное нейропротективное действие в условиях экспериментального инсульта [97]. По данным С. Iadecola с соавт. [146], аминоксидины облада-

ют защитными свойствами даже при задержке лечения на 24 ч, что представляет безусловный интерес в плане их возможного клинического применения в терапии ишемического инсульта.

Многообещающим антиоксидантом является *эбселен (ebselen)* — селеноорганическое соединение, действующее через глутатион и обладающее пероксидазоподобным эффектом. Эбселен ингибирует перекисное окисление мембранных фосфолипидов и тормозит фермент липоксигеназу в каскаде арахидоновой кислоты, блокирует продукцию супероксид-аниона активированными лейкоцитами, ингибирует *iNO*-синтазу и защищает от действия пероксинитрита. В экспериментах было показано, что эбселен оказывает нейропротективное действие после не только преходящей, но и долговременной фокальной ишемии мозга [103, 232]. В пилотном клиническом исследовании эффективности эбселена при ишемическом инсульте установлено, что применение его внутрь в суточной дозе 300 мг хорошо переносится и достоверно улучшает функциональное восстановление больных при назначении в первые 24 ч заболевания [253]. При более раннем использовании эбселена (в течение первых 12 ч) меньшая суточная доза — 150 мг приводит к уменьшению размеров инфаркта мозга и лучшему результату инсульта. Наиболее выраженный и достоверный нейропротективный эффект препарата отмечен при его применении в первые 6 ч заболевания [191]. Испытания эбселена продолжаются.

Антиоксидантное действие оказывает отечественный препарат *эмоксилин (etoxipil)* — производное 3-гидроксипирида. Основными эффектами эмоксилина являются торможение ПОД и активация антиоксидантной системы [45]; изменение активности мембранных связанных ферментов [40]; модификация метаболической, рецепторной и транспортной функций клеточных мембран [8, 59]. Показано, что препарат стабилизирует кальций-АТФазу саркоплазматического ретикулума в условиях денатурации сарколеммы и препятствует повреждению мембраны клеток [32]; ингибирует фосфолипазу, способствуя набуханию в ткани мозга *sAMP* [60]. Установлено антигипоксическое действие эмоксилина [28, 62].

Препарат безопасен и хорошо переносится больными. При пилотном исследовании эффективности эмоксилина у ограниченного числа больных с острым ишемическим инсультом (внутривенно капельно по 15 мл 1 % раствора в течение 10 дней, затем внутримышечно по 5 мл 1 % раствора в течение 14 дней) показано его благоприятное действие на регресс неврологических нарушений и нормализацию паттерна ЭЭГ [25, 69]. Однако требуются хорошо организованные рандомизированные клинические исследования для получения достоверного заключения о нейропротективных свойствах эмоксилина.

Отдельным антиоксидантом нового поколения является *мексидол (mexidol)* — соль эмоксилина и янтарной кислоты. Препарат тормозит ПОД и свободнорадикальные процессы, увеличивает концентрацию восстановленной формы глутатиона, активирует эндогенную антиоксидантную систему супероксиддисмутазы и церулоплазмин, предупреждает снижение активности глутатион-зависимых ферментов (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы), в результате чего достоверно уменьшается выраженность процессов оксидантного стресса [26]. Выявлено также позитивное влияние мексидола на состояние мембранных структур клеток: уменьшение вязкости липидного бислоя мембраны и увеличение ее текучести; модуляция активности мембраносвязанных ферментов, ионных каналов, рецепторных комплексов, в том числе бензодиазепинового, ГАМК, ацетилхолинового; улучшение синаптической передачи и пластичности мозга [8, 46, 59]. Пре-

парат стимулирует энергосинтезирующие функции митохондрий и улучшает энергетический обмен в клетке, повышая таким образом устойчивость ткани мозга к гипоксии и ишемии [68]. Причиной антигипоксического эффекта мексидола является прямое окисление сукцината, входящего в его состав, о чем свидетельствует усиление эндогенного дыхания, сопровождающееся восстановлением флавинопротеидов [42, 43].

Мексидол не только оказывает метаболическое действие, но и улучшает мозговое кровообращение: вызывает обратное развитие атеросклеротических изменений в артериях, обладает гиполипидемической активностью (снижает уровень общего холестерина и липопротеидов низкой плотности), нормализует реологические свойства крови, подавляет агрегацию тромбоцитов [46, 48]. При этом препарат достоверно не влияет на показатели системной гемодинамики, а также лишен выраженных побочных эффектов.

Доклинические испытания продемонстрировали безопасность мексидола при применении его в суточной дозе до 100 мг/кг и эффективность препарата при разных вариантах церебральной гипоксии, в том числе циркуляторной (ишемии). В условиях гипоксии продолжительность жизни животных, получавших мексидол, увеличивалась на 22 % по сравнению с контролем, 33,3 % животных переживали 30-минутный гипоксический барьер (в контрольной группе его не достигало ни одно животное).

Пилотные клинические исследования, проведенные в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета, подтвердили хорошую переносимость мексидола, отсутствие значимых побочных эффектов, установили положительное влияние препарата на течение острого периода ишемического инсульта. В настоящее время с целью объективизации нейропротективных эффектов мексидола проводится его рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование для оценки эффективности в первые часы и дни после развития каротидного ишемического инсульта.

15.2. Антитела к молекулам межклеточной адгезии

Другим направлением второй нейропротекции является торможение активации микроваскуляры индуцированных ею реакций (повышенного синтеза провоспалительных цитокинов и молекул межклеточной адгезии, развития доминирующей воспалительной и микроциркуляторных изменений).

С учетом роли лейкоцитов в развитии локальной воспалительной реакции в очаге ишемии, а также в возникновении клеточно-микроциркуляторных нарушений, лежащих в основе реперфузионного повреждения ткани мозга [113, 117] (см. раздел 8.2), представляло интерес изучение эффективности *антител к молекулам межклеточной адгезии (anti-ICAM)*. Экспрессия молекул межклеточной адгезии *ICAM-1* на сосудистом эндотелии усиливает адгезию к нему лейкоцитов [106, 219, 227]. Адгезированные нейтрофилы способны активировать свободные радикалы, протеазы, токсичные прооксидантные метаболиты, вызывая дополнительное повреждение ткани мозга [137]. Механическая обструкция микроциркуляторного русла может приводить к возникновению феномена «навосстановленного кровотока» (*no-reflow*) [73]. Экспериментальные исследования [87, 256, 257] показали, что антитела к *ICAM-1* предотвращают активацию лейкоцитов и микроциркуляторные нарушения, уменьшают размер инфаркта мозга и улучшают исход проходящей, но не долговременной фокальной ишемии. Вместе с тем при

клинических испытаниях препарата моноклональных антител к *ICAM-1 энлиномаба (enlimotab)* у 625 больных с ишемическим инсультом, начиная с первых 6 ч после его развития (160 мг в 1-е и по 40 мг на 2—5-е сутки внутривенно), выявлены его негативные эффекты. У леченных энлиномабом больных отмечены ухудшение клинического исхода инсульта и повышение летальности вследствие частого присоединения инфекций, пневмоний, возникновения температурной реакции [109, 217]. Полагают, что побочные эффекты препарата были связаны с его комплемент-опосредованными реакциями.

Несмотря на отрицательные результаты испытания моноклональных антител к *ICAM-1*, большое внимание уделяется исследованию терапевтических эффектов препарата человеческих антител к лейкоцитарным интегринам *CD11/CD18* [113]. Экспериментальные работы на моделях острой фокальной ишемии свидетельствовали об ограничении размеров инфаркта мозга на фоне применения антител к лейкоцитарным интегринам при временной, но не постоянной, ишемии [94, 96, 115]. В настоящее время начаты клинические испытания препарата [119].

15.3. Блокаторы провоспалительных цитокинов; активаторы противовоспалительных факторов

Как отмечалось в главе 8, провоспалительный цитокин ИЛ-1 β является основным триггером локальной воспалительной реакции в очаге ишемии. Кроме того, ИЛ-1 β опосредует эксайтотоксичность через глутаматные *NMDA* рецепторы, способствует синтезу провоспалительных цитокинов и активирует поверхностные адгезионные молекулы [170, 211, 234]. В экспериментах на моделях кратковременной фокальной ишемии мозга избыточная экспрессия эндогенных антагонистов к рецепторам ИЛ-1 β , или назначение антагониста ИЛ-1 β цинк-протопорфирина (*zinc protoporphyrin, ZnPP*) приводило к уменьшению размеров инфаркта мозга и отека [82, 152]. Аналогичные результаты получены в экспериментах с ингибированием других провоспалительных цитокинов [101, 125, 197, 206]. В настоящее время на доклиническом уровне проводится разработка методов блокады провоспалительных цитокинов, изучаются дозо- и времязависимые эффекты их антагонистов на разных моделях фокальной церебральной ишемии у животных [113].

В то же время экспериментальные исследования показали, что прогрессирование ишемического повреждения мозга может происходить вследствие не только увеличения уровня провоспалительных цитокинов, но и недостатка противовоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов [78, 88, 91, 116, 147, 175, 187, 189]. Установлено, что предварительно введенные противовоспалительные цитокины ИЛ-10 и трансформирующий фактор роста β_1 (*TGF- β_1*) достоверно угнетают выработку ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α [93], тормозят адгезию лейкоцитов к эндотелию [220], подавляют выработку макрофагами повреждающих кислородных и *NO*-метаболитов [105, 136, 237]. Нейропротективные свойства *TGF- β_1* связаны также со стабилизацией кальциевого гомеостаза [207] и повышением экспрессии гена *bcl-2*, т.е. с торможением не только некротической смерти нейронов, но и апоптоза [138, 154]. Таким образом, важным направлением поиска новых нейропротективных стратегий является разработка методов стимуляции защитных противовоспалительных систем; использование препаратов, усиливающих синтез и активность ИЛ-10 и *TGF- β_1* .

15.4. Статины, эстрогены

В исследованиях, проведенных в последние годы, выявлены нейропротективные свойства у широко используемых в клинической практике препаратов: ингибиторов редуктазы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермента А (*HMG-CoA*), или статинов, вызывающих снижение уровня холестерина в крови, и эстрогенов [108, 236]. Установлено, что эти препараты могут снижать чувствительность ткани мозга к фокальной ишемии, уменьшать частоту развития ишемического инсульта у пациентов с ишемической болезнью сердца. При этом данный эффект препаратов не зависит от уровня сывороточного холестерина.

Экспериментальная работа на модели острой фокальной ишемии мозга [108] показала, что применение статинов у животных улучшает церебральный кровоток через активирующую регуляцию *NO*-синтазы и снижает размер инфаркта на 30 %. Согласно результатам исследования К. Раһап с соавт. [196], статины также ингибируют опосредованную через провоспалительные цитокины активацию *INO*-синтазы и продукцию оксида азота в клетках астроцитов и макрофагов. Наряду с этим статины могут тормозить окисление липопротеинов и снижать активность свободнорадикальных процессов в ткани мозга [95, 142].

Интерес к полученным результатам обусловил активный в настоящее время поиск наиболее оптимальных доз препаратов для применения их при остром ишемическом инсульте, а также определение временного окна и схем введения для обеспечения максимальной эффективности.

15.5. Нейротрофические факторы

Огромное значение в развитии процессов ишемического повреждения ткани мозга имеет недостаточность трофического обеспечения (см. главы 9 и 12), уровень которого определяет альтернативный выбор между генетическими программами апоптоза и антиапоптозной защиты, влияет на механизмы некротических и регенеративных процессов [39, 130, 243].

Естественной защитой у клеток мозга в первые минуты ишемии является синтез трофических факторов и рецепторов к ним. При быстрой и активной экспрессии кодирующих нейротрофины (факторы роста), ишемия мозга может длительно не приводить к инфарктным изменениям [233]. В случае же затягивания ишемического повреждения высокий уровень трофических факторов обеспечивает регресс неврологического дефицита даже при сравнении морфологического дефекта, вызвавшего его [238].

Таким образом, важным направлением вторичной нейропротекции является разработка и внедрение в клиническую практику препаратов с выраженными нейротрофическими и ростовыми свойствами.

Факторы роста, представляющие собой эндогенные полипептиды (см. главу 9), являются идеальными претендентами для лечения инсульта, так как обладают нейропротективными, репаративными и пролиферативными свойствами. В 70-х годах в экспериментальных исследованиях установлено защитное влияние фактора роста нервов (*NGF*) на выживаемость нейронов, состояние их энергетического метаболизма и белкового синтеза в условиях ишемии [156]. Однако значительные размеры полипептидной молекулы нейротрофина не позволяют ему проникать через гематоэнцефалический барьер, что ограничивает возможности его терапевтического применения.

Позже были выявлены нейропротективные эффекты основного фактора роста фибробластов (*bFGF*) [177], при введении которого в гиппокампальные структуры за несколько минут до введения глутамата многократно уменьшалось количество погибших нейронов и происходило ослабление потока ионов Ca^{2+} в клетку, по сравнению с таковыми в аналогичных экспериментах без трофической защиты. На моделях острой фокальной ишемии мозга у животных доказаны нейропротективные свойства *bFGF* [112, 114], *BDNF* [213], противовоспалительного цитокина *TGF-β* [125], инсулин-зависимого фактора роста (*IGF*) [177], остеогенного белка-1 (*OP-1*) [174]. Все они при введении после индукции ишемии сокращают размер инфарктной зоны на 35–50 %. Наряду с нейропротективным влиянием *bFGF* и *OP-1* проявляют выраженные регенеративные и пролиферативные свойства [160, 161]: при назначении спустя 24 ч с момента развития ишемии достоверно улучшают функциональный исход экспериментального инсульта при стабильных размерах инфаркта мозга. Во 2-й фазе клинических испытаний *bFGF* показаны его безопасность и хорошая переносимость, а также подтверждены нейропротективные и репаративные эффекты препарата [111].

15.6. Нейропептиды

Тесная взаимосвязь всех отдаленных последствий ишемии, а также общность их триггерных механизмов позволяют наряду с локальным воздействием на них использовать модулирующие влияния через системы регуляторов, осуществляющих контроль за работой всей системы вторичных клеточных мессенджеров, цитокинов и других сигнальных молекул, а также за запуском генетических программ апоптоза, активации апоптозной защиты, усиления нейротрофического обеспечения. Такие регуляторные (модуляторные) влияния устраняют общую дезорганизацию во взаимодействии сложных и часто разнонаправленных молекулярно-химических механизмов, восстанавливая их нормальный баланс. Особо важную роль играют эндогенные регуляторы функций ЦНС — нейропептиды. Их молекулы, представляющие собой короткие аминокислотные цепи, «нарезаются» из более крупных белковых молекул-предшественников ферментами протеолиза («процессинг») лишь «в нужном месте» в нужное время в зависимости от потребностей организма [245]. Нейропептиды существуют всего несколько секунд, но длительно — их действие может измеряться часами [5]. Эндогенное образование нейропептидов в ответ на какое-либо изменение внутренней среды приводит к высвобождению ряда других пептидов, для которых первый является индуктором. Если их совместное действие однонаправленно, эффект будет суммированным и продолжительным. Выход пептида может регулироваться несколькими регуляторными пептидами предыдущего каскада. Таким образом, эффекторная последовательность совокупности пептидов образует так называемый пептидный регуляторный континуум, особенность которого заключается в том, что каждый из регуляторных пептидов способен индуцировать или ингибировать выход ряда других пептидов. В результате первичные эффекты того или иного пептида могут развиваться во времени в виде цепных и каскадных процессов [5].

Особенностью структуры нейропептидов является наличие нескольких лигандных групп связывания, предназначенных для разных клеточных рецепторов. Это одно из «молекулярных объяснений» присущей им полифункциональности. Физиологическая активность нейропептидов во много

раз превышает аналогичное действие непептидных соединений. В зависимости от места их высвобождения нейропептиды могут осуществлять медиаторную функцию (передачу сигнала от одной клетки к другой), модулировать реактивность определенных групп нейронов, стимулировать или тормозить выброс гормонов, регулировать тканевый метаболизм или выполнять функцию эффекторных физиологически активных агентов (вазомоторная, Na^+ -уретическая и другие виды регуляции). Известно, что нейропептиды способны регулировать активность про- и противовоспалительных цитокинов через модуляцию активности их рецепторов. При этом восстановление нормального баланса цитокинов происходит более эффективно, чем при воздействии на отдельные цитокиновые системы. Как правило, «цитокиновые» эффекты нейропептидов сопровождаются их влиянием на генерацию оксида азота и другие оксидантные процессы. Многие нейропептиды проявляют выраженные нейротрофические ростовые свойства. С учетом того, что нейропептиды легко проникают через гематоэнцефалический барьер (в отличие от полипептидных цепей факторов роста), трудно переоценить их потенциальную терапевтическую значимость.

В последние годы большое внимание было уделено изучению свойств нейропептидов, структурно связанных с адренокортикотропным гормоном (АКТГ). Было показано, что АКТГ-подобные пептиды участвуют в текучести синаптических мембран [140], модулируют рецепторные функции, влияя на процессы фосфорилирования белков, тормозят активацию микроглии и избыточный синтез нейротоксичных цитокинов и ингибируют *NMDA* рецепторы, обладают самостоятельным нейротрофическим эффектом [139, 140].

Особого внимания заслуживает синтетический аналог АКТГ 4-10 с аминокислотной последовательностью *Met-His-His-Phe-Pro-Gly-Pro* (*MEHFPGR*) — *семакс*, синтезированный под руководством академика И.П. Ашмарина учеными Института молекулярной генетики РАН и МГУ им. М.В. Ломоносова [5, 51]. В экспериментах на культурах ткани и моделях церебральной ишемии, а также в клинических условиях установлены сильные нейропротективные эффекты *семакса*, проявляющиеся его влиянием фактически на все механизмы ускоренной смерти нейронов: активацию микроглии и цитокиновый дисбаланс, воспаление, синтез оксида азота, оксидантный стресс, трофическую дисфункцию [30, 49, 77, 128, 218].

15.6.1. Семакс

Семакс (АКТГ 4-10, *MEHFPGR*) — первый отечественный ноотропный препарат пептидного типа из группы нейропептидов, имеющий ряд важных преимуществ перед известными аналогами (табл. 15.2): полное отсутствие токсических и побочных влияний, гормональной активности, увеличение продолжительности действия более чем в 24 раза по сравнению с природным аналогом, возможность интраназального введения с реальным проникновением в мозг. При интраназальном введении *семакса* через 4 мин проникает через гематоэнцефалический барьер [203, 204]; период его полураспада в организме — несколько минут, а терапевтическое действие при однократном введении продолжается 20–24 ч [204]. Пролонгирование действия *семакса* связано с его последовательной деградацией (рис. 15.1), при которой большая часть эффектов нейропептида сохраняется у его фрагментов *EHFPGR* (*Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*) и *HFPGR* (*His-Phe-Pro-Gly-Pro*), также являющихся стабильными нейропептидами, самостоятельно модулирующими холинергическую нейротрансмиссию и генерацию оксида азота [7, 77].

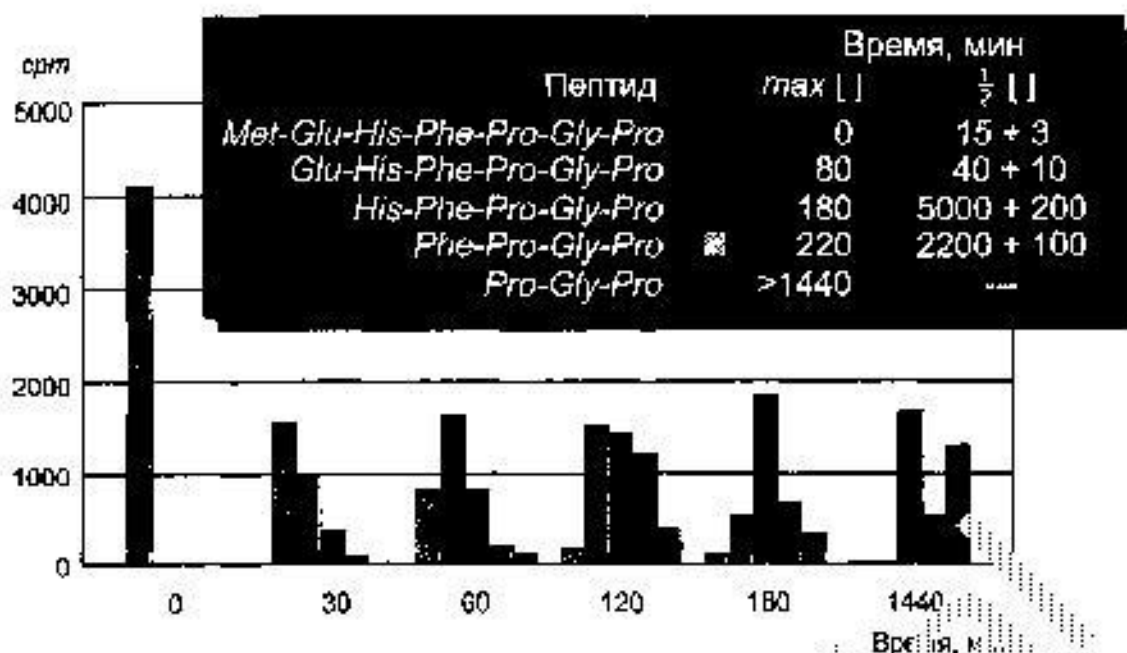


Рис. 15.1. Деградация семакса с образованием нейротоксичных фрагментов [Аншмарин И.П. и др., 1997].

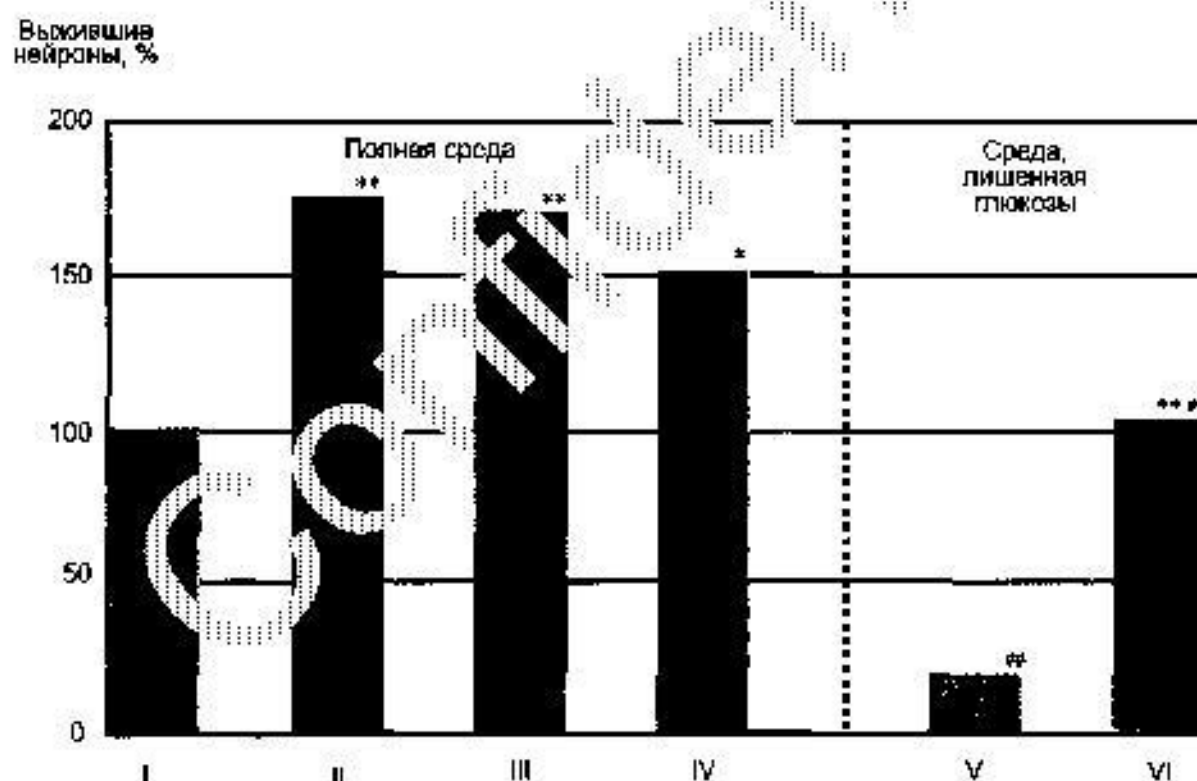


Рис. 15.2. Влияние семакса на выживание холинергических нейронов в культуре головного мозга крыс [Гриценников И.А. и др., 1997].

I — контроль в условиях полной среды; II — NGF; III — семакс 100 нг/мл в условиях полной среды; IV — семакс 10 мкг/мл; V — контроль в условиях среды, лишенной глюкозы; VI — семакс 100 нг/мл в условиях среды, лишенной глюкозы. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; достоверность различий в показателе в условиях полной среды: # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$.

Таблица 15.2. Семакс и его ближайшие аналоги

Семакс (semax, АКТГ 4-10)	—	<i>Met-Glu-His-Phe-Pro-Glu-Pro</i>
АКТГ 4-7	—	<i>Met-Glu-His-Phe</i>
ORG 2766	—	<i>(O₂)Met-Glu-His-Phe-dK⁺Ph</i>
Эбизатид (<i>ebizatid</i>)	—	<i>(O₂)Met-Glu-His-Phe-dK⁺Ph-NH-(CH₂)₈-NH₂</i>

В экспериментах на культуре ткани продемонстрировано мощное трофотропное действие препарата на нейроны холинергической группы как в полной среде, так и в неблагоприятных условиях, обусловленных депривацией глюкозы и кислорода. При добавлении семакса в дозе 10⁻⁷ нмоль и 10 мкмоль выживаемость нейронов достоверно повышалась примерно в 2 раза, что было сопоставимо с аналогичным эффектом *NGF* [100, 124] (рис. 15.2). Специфичность действия семакса на популяцию холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга была подтверждена результатами экспериментов, в которых показано отсутствие глюкозального влияния пептида на выживаемость ГАМКергических нейронов и глиальных клеток мозжечка. Направленное действие нейропептида на холинергические нейроны сопровождалось достоверным повышением активности фермента ацетилхолинэстеразы специфических структур мозга, что обычно коррелирует с улучшением процессов обучения и формирования памяти [3]. Установлено, что влияние семакса на активность ацетилхолинэстеразы осуществляется за счет транскрипции гена, кодирующего одну из изоформ фермента [4].

Исследования с помощью микроэлектродной техники продемонстрировали действие семакса на проводимость электротонического синапса между двумя идентифицированными нейронами [153]. Показано, что через 14–30 мин после введения нейропептида в дозе 200 нмоль отмечается двукратное увеличение коэффициента передачи нервного импульса. Улучшение проводимости сохранялось в течение 5–6 ч.

В экспериментах на животных установлено, что даже в очень малых дозах (3–30 мкг/кг) семакс обладает ярко выраженным ноотропным эффектом, увеличивает адаптационные возможности мозга, повышая его устойчивость к стрессовым воздействиям, гипоксии и ишемии. Более высокие дозы семакса (50–300 мкг/кг), не являясь токсичными и сохраняя ноотропные свойства малых доз, кроме того, оказывают выраженное антиоксидантное, антигипоксическое, ангиопротекторное и нейротрофическое действие [7, 11, 33, 154].

Клинические испытания на здоровых добровольцах подтвердили безопасность препарата, отсутствие у него токсичности и гормональной активности [5, 11, 33, 51, 52, 182].

15.6.1.1. Изучение эффективности семакса при экспериментальной ишемии мозга

Для изучения нейропротективных свойств семакса в условиях экспериментальной церебральной ишемии нами совместно с сотрудниками кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (И.П. Ашмарин, В.Б. Кошелев и др.) было проведено

рандомизированное слепое испытание препарата на 30 самцах крыс линии Вистар с массой тела 80—110 г в условиях необратимой двусторонней окклюзии общих сонных артерий (модель глобальной ишемии). Операцию осуществляли под эфирным наркозом с использованием хирургического доступа и одномоментной перевязки артерий шелковой лигатурой стандартно на каждом животном [71]. Продолжительность всех манипуляций составляла не более 7—10 мин, затем крысы быстро восстанавливались после наркоза.

Исследованные субстанции вводили внутрибрюшинно (суточная доза в 1 мл раствора). В эксперимент были включены группы животных, получавших семакс и изотонический раствор *NaCl* (контроль), а также ложнооперированные животные. В основную группу входили 10 животных, получавших семакс из расчета 300 мкг/кг в сутки дробно через 15, 60, 120 мин и 5 ч после окклюзии. Доза и дробное введение препарата были выбраны на основании клинических и экспериментальных данных, продемонстрировавших ноотропный эффект малых доз семакса (3—30 мкг/кг) и антигипоксическое и нейротрофическое действие высоких доз препарата (150—300 мкг/кг) [7, 11, 155]. Десять животных контрольной группы получали по 0,5 мл изотонического раствора *NaCl* через 15 и 60 мин после окклюзии. В группе ложнооперированных животных под тем же наркозом был осуществлен хирургический доступ к общим сонным артериям без их перевязки и внутрибрюшинно введен изотонический раствор *NaCl*. Неврологический дефицит оценивали слепо (без информации о распределении крыс по группам) по шкалам *McGraw* [185] и *Rudolph* [101] через каждые 30 мин в течение суток.

По шкале *McGraw* балл возрастает с 1 (нет признаков неврологических нарушений) до 7 (смерть), по шкале *Rudolph* — уменьшется от 9 (норма) до 0 (смерть). Основные признаки неврологического дефицита: ограничение подвижности животного, пронос (дву- или односторонний), кружение, гиперактивное поведение, вращательные, тонические и клонические судороги, кома со слабым болевым ответом или без него.

Для статистического анализа полученных данных о динамике неврологического дефицита использовали непарный факторный анализ *ANOVA*, для оценки летальности и выражения статистических неврологических проявлений — тест Фишера.

В первые 3 ч после окклюзии общих сонных артерий вращательные и клонические судороги были зарегистрированы у 80 % животных контрольной группы и лишь у 3 % животных, получавших семакс ($p=0,08$).

При оценке неврологического дефицита выявлено, что в группе животных, получавших семакс, на протяжении суток сохранялся более низкий средний балл по шкале *McGraw* и более высокий по шкале *Rudolph* по сравнению с животными контрольной группы. Достоверные различия были определены в период от 1,5 до 6,5 ч ($p=0,03$, *ANOVA*; рис. 15.3).

Пятьдесят процентов смертных случаев в контрольной группе отмечено в первые 7 ч после окклюзии, при этом в группе животных, получавших семакс, до 7 ч не было зарегистрировано ни одного летального исхода, а 50 % смертных случаев было зафиксировано в интервале от 8 до 10 ч после окклюзии (рис. 15.4). Летальность к концу 1-х суток составила: 100 % в контрольной группе и 70 % в группе с применением семакса ($p>0,05$); средняя продолжительность жизни — $9,1\pm 1,7$ и $14,2\pm 2,5$ ч соответственно. Значения среднего балла по шкале *McGraw* на момент смерти были сопоставимы: $19,4\pm 0,9$ в контроле и $20\pm 1,1$ на фоне применения семакса. Необходимо от-

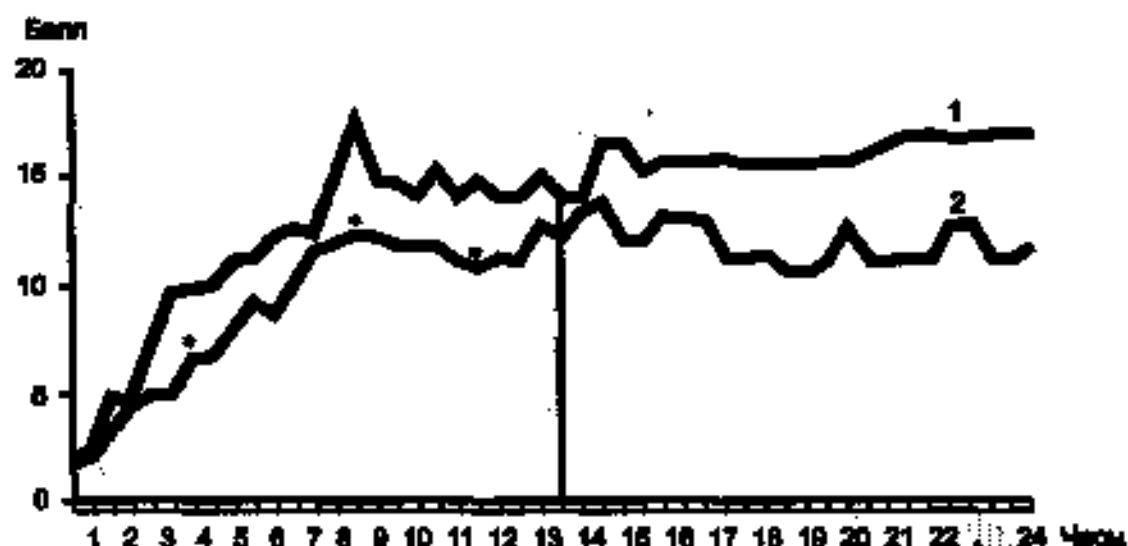


Рис. 15.3. Изменение балла по шкале McGraw у крыс в течение 24 ч после индукции глобальной ишемии мозга.

1 — контроль; 2 — сенакс. Достоверность различий с контролем; * — $p < 0,05$.

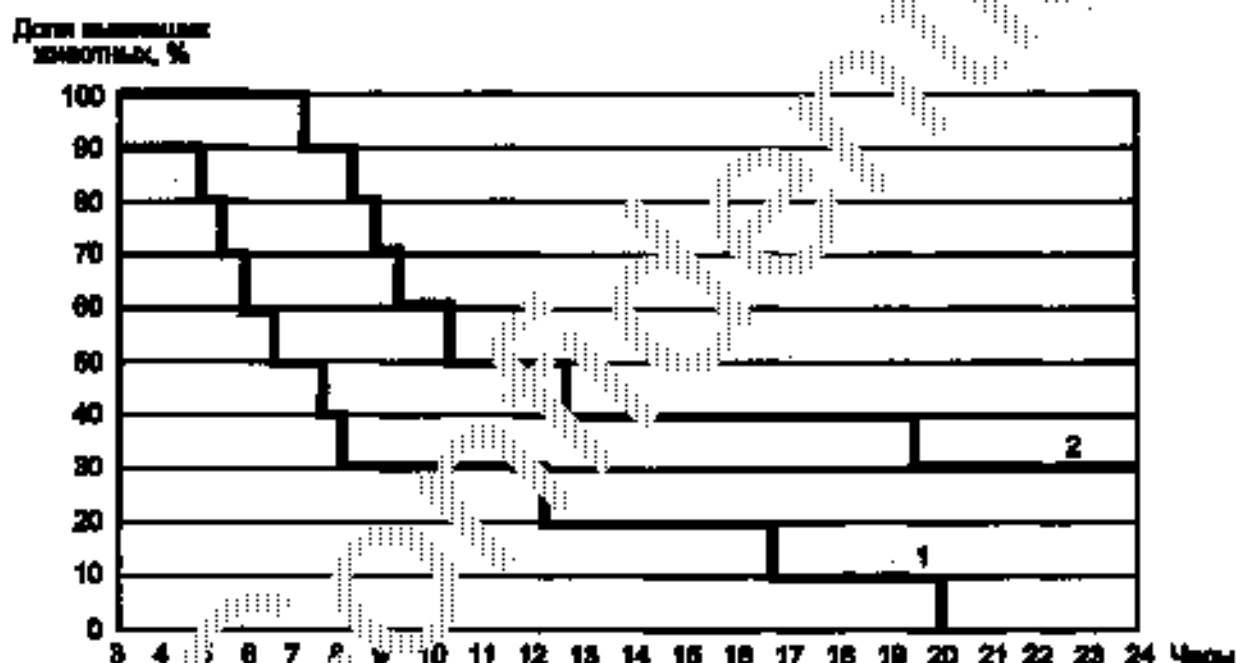


Рис. 15.4. Доля выживших животных на протяжении 24 ч после индукции глобальной ишемии мозга.

1 — контроль; 2 — сенакс.

метить, что к концу 1-х суток в группе животных, получавших сенакс, средний балл по шкале McGraw был на 7 пунктов выше, чем в контрольной группе, что свидетельствовало о выживании при использовании сенакса даже животных с выраженным неврологическим дефицитом.

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что применение сенакса при глобальной ишемии мозга у животных оказывает определенный положительный эффект, достоверно уменьшая выраженность неврологического дефицита в течение первых 6,5 ч по сравнению с

таким в контрольной группе. Наблюдаемая тенденция к увеличению выживаемости животных и удлинению периода до первого смертельного исхода в группе также может быть обусловлена нейропротективными свойствами препарата.

При исследовании эффектов семакса на моделях острой фокальной ишемии мозга установлены повышение выживаемости животных после экспериментального инсульта, достоверное уменьшение частоты геморрагических осложнений ($p < 0,01$) и выраженности неврологического дефицита ($p < 0,05$) [33, 34, 155].

Экспериментальные данные о потенциальных нейропротективных свойствах семакса, внедрение в медицинскую практику его удобной фармацевтической формы для интраназального введения, отсутствие токсичности и значимых побочных эффектов создали предпосылки для проведения первого клинического испытания препарата при ишемическом инсульте.

15.6.1.2. Рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование безопасности и эффективности семакса при каротидном ишемическом инсульте

Впервые было осуществлено клиническое испытание семакса при острой фокальной ишемии мозга у человека (гипотеза России № 2124365, 1997/1999).

Целью исследования явилось изучение безопасности и эффективности семакса у больных с ишемическим инсультом, его влияния на исход заболевания.

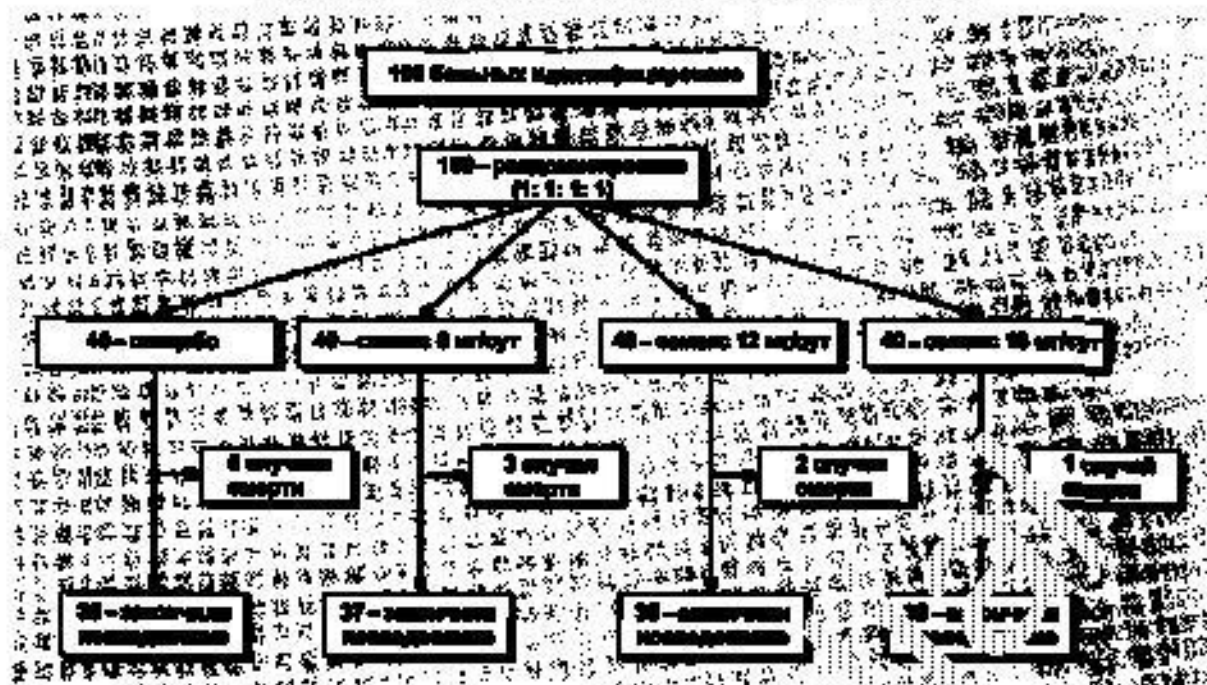
Работу проводили в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета по согласованию с Этическим комитетом [30, 49, 127, 128, 138]. Больных включали в исследование после получения их (или их представителей) устного или письменного согласия.

Критериями «включения» больных в исследование являлись клинический диагноз первого или повторного ишемического инсульта в каротидной системе, возраст 45—75 лет, ясное сознание или умеренно выраженные расстройства сознания до уровня сопора (по шкале Оргозофф балл нарушения сознания более 13), начало терапии в пределах 12 ч от начала заболевания. Из исследования исключали пациентов с повторными инсультами и остаточными явлениями острых нарушений мозгового кровообращения, с другими неврологическими заболеваниями или тяжелой соматической патологией в стадии декомпенсации, а также больных с острым инфарктом миокарда (в течение предыдущих 6 нед), атриовентрикулярной блокадой II—III степени.

Популяция исследуемых больных включала 160 человек (85 мужчин и 75 женщин; средний возраст $61,3 \pm 9,6$ года), у 97 из которых отмечался ишемический инсульт в системе левой, у 63 — правой внутренней сонной артерии; 68 больных были госпитализированы в первые 6 ч заболевания, 92 — между 6 и 12 ч после развития инсульта.

При поступлении пациентам рандомизированно и вслепую было интраназально назначено плацебо или семакс в одной из трех доз — 6; 12 и 18 мг/сут в течение 5 дней (схема 15.1). «Фоновая» терапия была максимально унифицирована и включала гемодилюцию, гепарин в низких дозах (при необходимости), аспирин и осмотические диуретики (при необходимости).

Схема 15.1. Исследование эффективности семакса у больных в остром периоде ишемического инсульта



Блокаторы кальциевых каналов, глицин, глицерин (ноотропил), препараты с нейротрофическими и модуляторными свойствами (ганглиозиды, низкомолекулярные пептиды) не использовались.

Базисная оценка состояния больных включала общее и неврологическое обследование, анализ данных ЭКГ, клинических и биохимических анализов крови и цереброспинальной жидкости. УГ головного мозга проводили в первые 12 ч заболевания. Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита использовали Скандинавскую шкалу [212], шкалу Оргогозо [17] и оригинальную шкалу [17]; исход функционального восстановления оценивали по индексу Бартела [123, 180]. Мониторирование АД, частоты сердечных сокращений и ЭКГ проводили в течение первых 12 ч после начала терапии и на 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 21-й и 30-й сутки. Неврологический статус оценивали при поступлении пациентов, по окончании лечения семаксом (на 6-е сутки) и в конце исследования (на 30-е сутки). Оценку по индексу Бартела осуществляли на 30-е сутки.

См. также побочные эффекты препарата отслеживали в течение всего исследования (30 дней). Безопасность терапии контролировал специально созданный комитет, который рассматривал все случаи детального исхода и возникновения побочных эффектов.

В качестве основных «конечных точек» исследования были выбраны безопасность препарата, степень регресса неврологического дефицита по шкалам Оргогозо, Скандинавской и оригинальной, степень функционального восстановления по индексу Бартела и 30-дневная летальность.

Статистический анализ несвязанных переменных проводили с помощью U-теста Манна—Уитни для сравнения динамики суммарного клинического балла. Летальность оценивали с использованием теста Фишера. Корреляционному анализу были подвергнуты значения прироста суммарных клинических баллов по использованным шкалам. Для всех тестов был выбран двусторонний 5 % уровень значимости.

Таблица 15.3. Демографические и исходные клинические характеристики 160 больных с острым ишемическим инсультом, включенных в исследование

Пол (м/ж)	26/14	25/15	25/15	23/17	> 0,05
Средний возраст, годы	63,3±8,7	65,5±9,5	64,7±10,1	66,7±10,5	> 0,05
Соотношение числа пациентов с поражением левого/правого полушарий	25/15	24/16	23/17	25/15	> 0,05
Время, прошедшее с момента развития инсульта до поступления в стационар	7,5±1,3	8,0±1,5	7,7±1,7	8,1±2,0	> 0,05
Средний балл на момент поступления по OSS	40,7±3,1	39,8±2,1	40,1±2,5	38,1±1,7	> 0,05
Количество пациентов с баллом по OSS 40 и менее (тяжелый инсульт)	19(47,5%)	20(50,0%)	19(52,1%)	20(50,0%)	> 0,05
Количество пациентов с баллом по OSS более 40 (инсульт средней тяжести)	21(52,5%)	20(50,0%)	21(52,1%)	20(50,0%)	> 0,05
Средний балл при поступлении по SSS	26,67±1,5	25,8±1,1	27,0±1,3	26,1±1,5	> 0,05

Сравнительный анализ групп пациентов, получавших семакс и плацебо, свидетельствовал об их сопоставимости по демографическим показателям, этиологии и тяжести инсульта на момент госпитализации, что обусловило возможность сравнительного изучения динамики клинических и иммунобиохимических показателей (табл. 15.3).

Результаты исследования подтвердили безопасность семакса. Среди побочных эффектов отмечалось лишь побледнение слизистой оболочки полости носа у 10 % больных и заложенность (не более чем на 10 % выше «привычных» значений), быстрое купирование повышенные концентрации глюкозы в крови у 7,4 % пациентов, страдающих сахарным диабетом. Значимого влияния препарата на уровень АД и ЭКГ, других побочных эффектов не обнаружено.

При клиническом анализе установлено достоверное ($p < 0,05$ по критерию Фишера) снижение летальности в группах больных, леченных семаксом в дозах 12 и 18 мг/сут по сравнению с группой больных, получавших семакс по 6 мг/сут и плацебо (5; 2,5; 7,5 и 12,5 % соответственно). Тенденция к снижению летальности в группе больных, принимавших семакс в дозе 6 мг/сут, не была достоверной (табл. 15.4). Летальность среди тяжелобольных, у которых наблюдались прогрессирующее течение инсульта и устойчивое нарастание неврологического дефицита, при лечении семаксом в дозах 12 и 18 мг/сут составила 10,5 % (2 из 19) и 5 % (1 из 20), тогда как при применении семакса в дозе 6 мг/сутки и использовании плацебо — 15 % (3 из 20) и 21,05 % (4 из 19) соответственно.

Сопоставление клинической динамики в группах больных, получавших семакс и плацебо, показало достоверное ускорение регресса неврологичес-

Таблица 15.4. Летальность и причины смерти больных

Число умерших:					
в целом по группе	5/40 (12,5%)	3/40 (7,5%)	2/40 (5%)*	1/40 (2,5%)*	
с исходным суммарным клиническим баллом по OSS более 40 (малый инсульт и инсульт средней тяжести)	1/21 (4,8%)	0/20 (0%)	0/21 (0%)	0/20 (0%)	
с исходным суммарным клиническим баллом по OSS менее 40 (тяжелый инсульт)	4/19 (21,05%)	3/20 (15%)	2/19 (10,5%)*	1/20 (5%)*	
Причина смерти:					
отек мозга с развитием вторичного стволового синдрома	3	3	2	1	
тромбозы боковой артерии	1	0	0	0	
острая сердечная недостаточность	1	0	0	0	

Примечание. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$.

ких нарушений на фоне лечения семаксом в дозе 12–18 мг/сут: при инсульте средней тяжести ($p < 0,001$ – $0,01$) и тяжелом ($p < 0,0001$ – $0,01$) (табл. 15.5). Вместе с тем при испытании высоких доз семакса (6 мг/сут) достоверных различий в темпе и характерности клинической динамики с группой «плацебо» не выявлено ($p > 0,05$) (см. табл. 15.5).

Таблица 15.5. Клинический суммарный клинический балл при каротидном инсульте разной степени тяжести (M±m)

		К 6-м суткам заболевания			
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	15,9±1,07	16,5±1,3	20,0±1,5*	18,3±1,8*
	Тяжелый инсульт	5,5±1,5	5,9±1,5	19,5±2,7**	22,7±3,1***
Скандинавский	Инсульт средней тяжести	6,45±1,7	7,5±1,5	12,0±1,8*	8,93±1,7
	Тяжелый инсульт	2,0±1,7	3,5±1,7	10,0±1,2**	13,4±1,6***
Оригинальный	Инсульт средней тяжести	2,45±0,2	2,95±0,3	4,0±0,3*	4,5±0,4
	Тяжелый инсульт	-0,22±0,6	1,5±0,6	2,5±0,2***	2,45±0,3***

К 30-м суткам заболевания					
Ортогосо	Инсульт средней тяжести	29,1±2,9	31,1±2,3	39,0±2,3**	34,95±1,7*^
	Тяжелый инсульт	23,3±2,9	27,5±2,3	37,5±2,7***	41,5±2,9***
Скандинавская	Инсульт средней тяжести	13,2±1,5	16,1±1,6	21,4±1,4***	18,7±0,9**^
	Тяжелый инсульт	12,1±2,2	13,5±2,0	18,7±1,8**	20,1±2,3***
Оригинальная	Инсульт средней тяжести	5,1±0,4	5,6±0,5	7,6±0,7*	6,4±0,5**^
	Тяжелый инсульт	7,0±0,7	7,75±0,6	8,3±0,7	9,3±0,6*

Примечания. 1. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,001$, *** — $p < 0,0001$. 2. Достоверность различий с группой «полтерек» в дозе 6 мг/сут: ^ — $p < 0,01$.

При ишемических инсультах средней тяжести с преобладанием в клинической картине очаговых неврологических симптомов эффективность семакса в дозе 12–18 мг/сут проявлялась с 1-го дня лечения повышением общей активности больных и улучшением их эмоционального состояния. У 93,4 % из них (57 из 61) отмечалось регрессивное течение острого периода инсульта со стабильным уровнем неврологических нарушений, тогда как в аналогичной по тяжести группе «плацебо» данный показатель составили лишь 71,4 % (15 из 21). В группах больных с инсультом средней тяжести, леченных семаксом, не зарегистрировано летальных исходов; в аналогичной по тяжести группе «плацебо» умер один больной (1 из 21; 4,8 %). Статистический анализ, проведенный среди больных с инсультом средней тяжести, показал достоверное ускорение регресса очаговой симптоматики к 6-м (по окончании курса лечения) и 30-м суткам заболевания на фоне применения семакса в дозах 12 и 18 мг/сут ($p < 0,0001$ – $0,01$ по сравнению с плацебо и семаксом в дозе 6 мг/сут). Наиболее выраженный терапевтический эффект вызывал семакс в дозе 12 мг/сут ($p < 0,05$ по сравнению с 6 мг/сут, см. табл. 15.5).

При тяжелом инсульте применение семакса в дозах 12 и 18 мг/сут позволяло достоверно ускорить регресс общемозговых и вегетативных симптомов заболевания. Все больные, поступившие в состоянии оглушения, к концу 2-х суток имели ясное сознание. К 5-му дню заболевания расстройства сознания и менингеальные симптомы сохранялись лишь у 6 больных с субтотальным инфарктом полушария большого мозга вследствие тромбоза ствола средней мозговой артерии, которые впоследствии умерли. У 84,7 % (50 из 59) тяжелобольных, леченных семаксом, отмечено регрессивное течение заболевания (в группе «плацебо» — у 63,2 %; 12 из 19). Показатель летальности при тяжелых инсультах составил в группе получавших семакс 10,2 %, тогда как у принимавших плацебо — 21,05 % ($p < 0,05$ по критерию Фишера).

Статистический анализ динамики неврологического статуса выявил ускоренный регресс неврологического дефицита на 6-е и 30-е сутки у тяжело-

больных, леченных семаксом в дозах 12 и 18 мг/сут, по сравнению с больными, принимавшими плацебо или семакс в дозе 6 мг/сут, причем наиболее выраженной положительной клинической динамикой оказалась при использовании дозы 18 мг/сут (см. табл. 15.5).

Оценка динамики отдельных очаговых симптомов показала статистически значимое ускорение восстановления двигательных ($p < 0,04-0,05$) и речевых ($p < 0,03-0,04$) функций на фоне применения семакса в дозах 12 и 18 мг/сут по сравнению с группой «плацебо».

Определение степени функционального восстановления (по индексу Бартеля) продемонстрировало увеличение доли больных с хорошим восстановлением при лечении семаксом в дозах 12 и 18 мг/сут, по сравнению с дозой препарата 6 мг/сут и плацебо. Различия были более выражены у больных с инсультом средней тяжести, принимавших семакс в дозе 12 мг/сут, и у тяжелобольных, принимавших препарат в дозе 18 мг/сут (табл. 15.6).

Таблица 15.6. Степень функционального восстановления (по индексу Бартеля) к 30-м суткам каротидного ишемического инсульта

Группа в целом:				
смерть	5/40 (12,5%)	3/40 (7,5%)	1/40 (2,5%)	1/40 (2,5%)
тяжелая инвалидизация	9/40 (22,5%)	4/40 (10%)	1/4 (5%)*	2/40 (5%)*
умеренная инвалидизация	16/40 (40%)	18/40 (45%)	11/40 (27,5%)	7/40 (17,5%)*
хорошее восстановление	10/40 (25%)	15/40 (37,5%)	30/40 (75%)*	30/40 (75%)*
Инсульт средней тяжести:				
смерть	1/21 (4,8%)	0/20 (0%)	0/21 (0%)	0/20 (0%)
тяжелая инвалидизация	1/21 (4,8%)	0/20 (0%)	0/21 (0%)	0/20 (0%)
умеренная инвалидизация	11/21 (52,4%)	10/20 (50%)*	1/21 (4,8%)*	2/20 (10%)*
хорошее восстановление	10/21 (47,6%)	10/20 (50%)	20/21 (95,2%)*	18/20 (90%)*
Тяжелый инсульт:				
смерть	1/19 (5,3%)	3/20 (15%)	2/19 (10,5%)	1/20 (5%)
тяжелая инвалидизация	4/19 (21,1%)	4/20 (20%)	2/19 (10,5%)*	2/20 (10%)*
умеренная инвалидизация	5/19 (26,3%)	8/20 (40%)	5/19 (26,4%)	5/20 (25%)
хорошее восстановление	2/19 (10,5%)	5/20 (25%)	10/19 (52,6%)*	12/20 (60%)*

Примечания. 1. Исход функционального восстановления оценен по индексу Бартеля: 0—45 баллов — тяжелая инвалидизация, 50—70 — умеренная, 75—100 — минимальное ограничение или полное восстановление неврологических функций. 2. Тяжесть инсульта оценена по шкале Ортогосо на момент госпитализации: более 40 баллов — инсульт средней тяжести, 40 и менее — тяжелый. 3. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$. 4. Достоверность различий с группой больных, леченных семаксом в дозе 6 мг/сут: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

При изучении эффективности семакса в зависимости от сроков начала терапии (через 2—6 или 6—12 ч после развития инсульта) установлены преимущества раннего (в пределах 6-часового интервала) применения нейропротектора. В этом случае определяли достоверно более выраженную восстановительную динамику по всем использованным клиническим шкалам (табл. 15.7).

Таблица 15.7. Эффективность семакса в зависимости от времени начала терапии (прирост суммарного клинического балла к 6-м и 30-м суткам) (M±m)

2—6 ч, n = 58	22,5±2,5	38,7±2,2	13,2±1,6	20,3±1,5	1,7±0,5	8,7±0,5
6—12 ч, n = 62	16,5±1,5	23,06±2,3	8,5±1,5	15,4±1,9	2,1±1,1	6,5±0,6
<i>p</i>	0,004	< 0,001	0,009	0,07	0,01	0,045

Таким образом, впервые проведенное рандомизированное двойное-слепое плацебо-контролируемое исследование установило безопасность и хорошую переносимость нейропептида семакса (АКТГ 4-10) при лечении больных с каротидным ишемическим инсультом, отсутствие у него значимых побочных эффектов. Интранатальное введение семакса в суточной дозе 12—18 мг на протяжении 5 суток лечения позволило достоверно снизить летальность, улучшить клинический исход инсульта и повысить степень восстановления нарушенных неврологических функций у больных с разной тяжестью и вар. форм развития заболевания, в том числе при наиболее тяжелых формах инсульта, обусловленных эмболическими и тромботическими окклюзиями интракраниальных отделов артерий мозга. Изучение дозозависимости эффективности препарата показало, что оптимальная суточная доза при инсультах средней тяжести (на момент поступления балл по шкале Спасского более 40) — 12 мг, при тяжелых инсультах (балл по шкале Спасского 40 и менее) — 18 мг. Наиболее выраженное нейропротективное влияние семакса оказывает при раннем применении, в пределах 6-часового интервала после нарушения мозгового кровообращения.

15.6.1.3. Изучение механизмов нейропротективного действия семакса при острой фокальной ишемии головного мозга

Учитывая экспериментальные данные о предполагаемых механизмах нейропротективного действия семакса, для объективного изучения его эффектов в клинических условиях нами совместно с сотрудниками Института молекулярной генетики РАН (Н.Ф. Мясоедов, И.А. Гривенников и др.), НИИ фармакологии РАМН (К.С. Раевский, В.С. Кудрин, В.Г. Башкатова), Института мозга человека РАН (С.А. Дамбинова и др.), лабораторией мембранологии Научного центра здоровья детей РАМН (В.Г. Пиналес и др.)

было проведено дополнительное обследование 80 больных (50 мужчин и 30 женщин; средний возраст $63,3 \pm 11,1$ года) в остром периоде ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии (в 43 случаях — левой, в 37 — правой); 35 больных были госпитализированы в первые 6 ч после нарушения мозгового кровообращения, 45 — между 6 и 12 ч заболевания. Критерии «включения» больных в исследование, методы и схемы клинического наблюдения были идентичны представленным в разделе 15.5.1.2.

При поступлении в клинику 40 больным был назначен семакс в ранее установленных оптимальных дозах (12 мг/сут при инсульте средней тяжести, 18 мг/сут при тяжелом инсульте), 40 — плацебо в течение 5 дней на фоне стандартизированной терапии (см. раздел 15.6.1.2).

Иммунобиохимическое исследование включало определение концентрации триггеров воспалительного ответа: ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-8; основного маркера воспалительных реакций — СРБ; противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и TGF- β ; нейротрофинов NGF и BDNF; содержания вторичных продуктов ПОЛ, СОД, cGMP, N-ацетилсераминовой кислоты и нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата, аспартата, глицина), ГАМК в цереброспинальной жидкости; а также титра аутоантител к фибринолизу связывающему белку глутаматных NMDA рецепторов в сыворотке крови. Описание методик исследования приведено в главах 4 и 8. Лабораторные исследования сыворотки крови проводили при поступлении больного в клинику и затем в первые 6, 9, 12 и 24 ч, на 3-ю, 5-ю и 11-ю сутки после развития ишемического инсульта. Исследования цереброспинальной жидкости были выполнены при поступлении больного в клинику, перед назначением семакса или плацебо, и на 3-ю сутки. Осложнений, связанных с проведением люмбальной пункции, не было.

Статистический анализ невязанных данных проводили с помощью U-теста Манна-Уитни для сравнения динамичности суммарного клинического балла и показателей иммунобиохимического профиля. Динамика биохимических параметров была оценена по ANOVA-тесту. Контроль конному анализу были подвергнуты значения прироста суммарных баллов по использованным шкалам, а также показатели динамики содержания исследованных соединений. Для всех тестов был выбран двусторонний 5% уровень значимости.

Иммунобиохимическое исследование, проведенное в первые часы инсульта (до назначения терапии), не выявило значимых различий в содержании цитокинов и СРБ между группами получавших семакс и плацебо ($p > 0,05$). У большинства больных установлен дисбаланс про- и противовоспалительных пептидергических систем мозга с достоверным увеличением содержания в цереброспинальной жидкости триггеров воспалительного ответа (ИЛ-1 β , $p < 0,001$; ФНО- α , $p < 0,05$) и СРБ ($p < 0,001$).

К 3-м суткам у больных, леченных семаксом, независимо от тяжести и варианта течения заболевания отмечали достоверно более выраженный по сравнению с больными, получавшими плацебо, прирост концентрации ИЛ-10 и ФНО- α , характеризующихся противовоспалительным и модуляторным действием, а также значимое снижение уровня СРБ и провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-8 в цереброспинальной жидкости (рис. 15.5). Степень снижения уровня СРБ имела отрицательную корреляционную связь с выраженностью прироста суммарного клинического балла по шкалам Оргогозо ($r = -0,7$) и Скандинавской ($r = -0,5$) к концу острейшего периода инсульта, что позволяет считать уменьшение концентрации СРБ в цереброспинальной жидкости значимым маркером эффективности проводимой терапии.

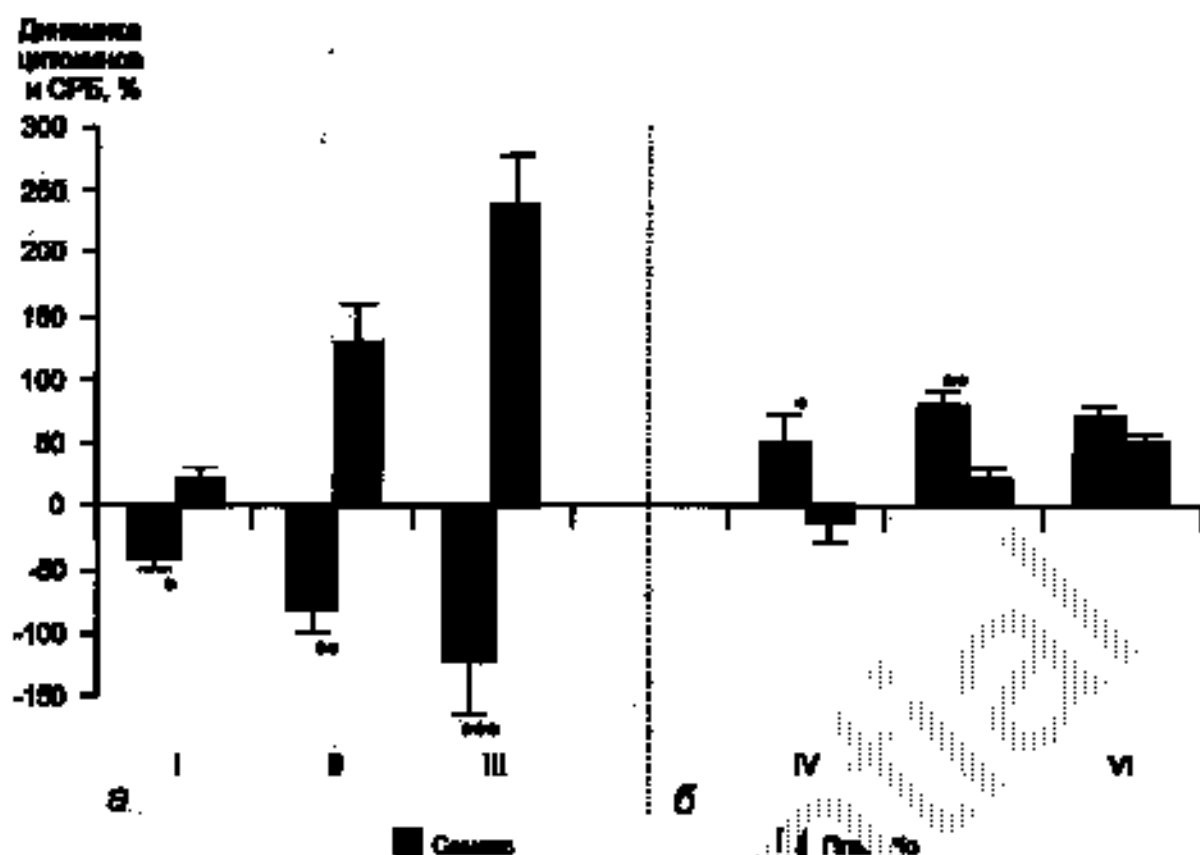


Рис. 15.5. Динамика уровней цитокинов и СРБ в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам после развития каротидной или мочечного инсульта.

а — провоспалительные цитокины и СРБ; б — противовоспалительные цитокины, I — ИЛ-1p; II — ИЛ-8; III — СРБ; IV — ФНО-α; V — ИЛ-10; VI — TGF-β1. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

Для уточнения влияния семакса на выраженность противовоспалительного ответа микроглии было проведено сравнение динамики клинических и иммунобиохимических показателей у больных с близкими концентрациями ИЛ-10 и ФНО-α в цереброспинальной жидкости в первые часы после развития инсульта (по 12 человек в группах получавших семакс или плацебо). Несмотря на сходные сопоставимые значения к 3-м суткам заболевания отмечались достоверные различия между группами в величинах абсолютного (пг/мл) и относительного (в %) прироста уровней ИЛ-10 и ФНО-α, других иммунобиохимических показателей, а также суммарного клинического балла. При лечении семаксом динамика иммунобиохимического статуса была достоверно более позитивной в прогностическом плане: зарегистрированы более выраженное по сравнению с группой «плацебо» повышение уровней ИЛ-10 ($p < 0,01$), ФНО-α ($p < 0,01$) и TGF-β1 ($p < 0,05$); значительное уменьшение содержания ИЛ-8 ($p < 0,01$) и СРБ ($p < 0,001$) на фоне опережающего прироста суммарного клинического балла к 6-м суткам заболевания ($p < 0,001$ по шкалам Оргозо и Скандинавской) (рис. 15.6).

У больных, леченных семаксом, к 3-м суткам заболевания установлено статистически значимое увеличение концентрации BDNF в цереброспинальной жидкости на 122 %; в группе получавших плацебо содержание нейротрофина повышалось лишь на 89 % по сравнению с показателем первого дня заболевания ($p < 0,01$). В то же время не выявлено влияния семакса на

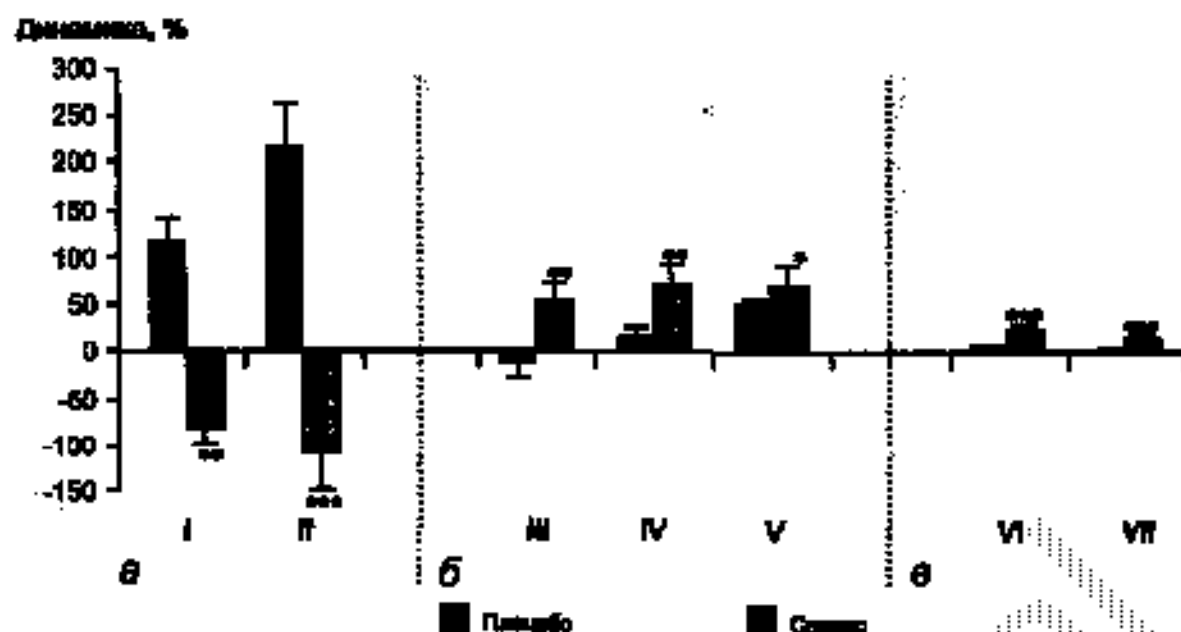


Рис. 15.6. Динамика уровней цитокинов и СРБ в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам и суммарного клинического балла к 6-м суткам инсульта у больных с исходно (в 1-е сутки) близкими концентрациями ИЛ-10 и ИЛ-6.

а — провоспалительные цитокины и СРБ; б — противовоспалительные и регуляторные цитокины; в — суммарный клинический балл. I — ИЛ-8; II — ССР-1; III — ИЛ-6; IV — ИЛ-10; V — TGF-β1; VI — шкала Оргогозо; VII — Скандинавская шкала. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

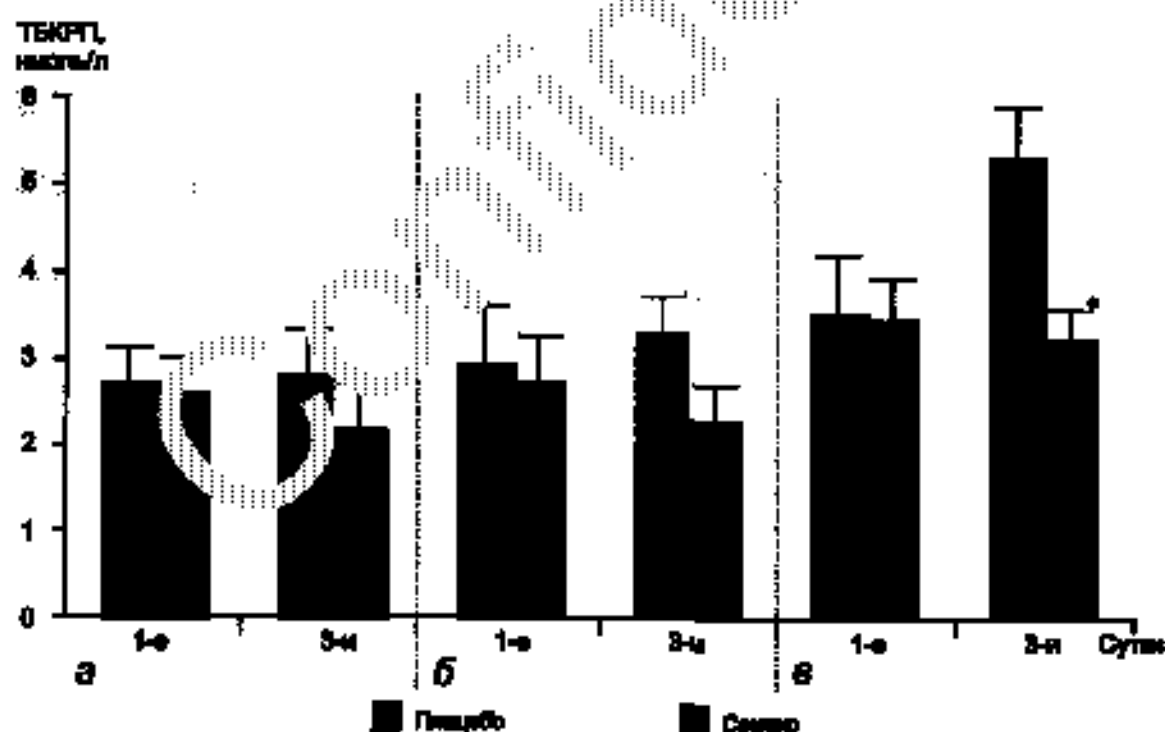


Рис. 15.7. Содержание вторичных продуктов ПОЛ (ТБКРП) в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — «малый» инсульт; б — инсульт средней тяжести; в — тяжелый инсульт. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$.

концентрацию *NGF*: степень ее повышения была сопоставима с таковой в группе «плацебо» (на 38 и 36 % соответственно). Избирательное действие семакса на нейротрофины, по-видимому, обусловлено разной их природой. Преимущественное влияние препарата на *BDNF* подтверждает его тропность к глиальной ткани.

Результаты динамического исследования содержания вторичных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБКРП) в цереброспинальной жидкости свидетельствовали о продолжающемся нарастании их концентрации к 3-м суткам заболевания на фоне применения плацебо (см. раздел 4.3.1). При лечении семаксом отмечалась тенденция к снижению содержания ТБКРП (рис. 15.7). Различия с группой «плацебо» были достоверными при тяжелых формах инсульта ($p < 0,05$).

Изучение концентрации СОД в цереброспинальной жидкости подтвердило обнаруженную ранее зависимость между ее увеличением к 3-м суткам заболевания и положительной клинической динамикой к 30-м суткам. Лечение семаксом вызывало достоверное повышение уровня СОД при тяжелых инсультах: на 72 % по сравнению с аналогичной по тяжести группой «плацебо» ($p < 0,05$; рис. 15.8).

Выявлено достоверное снижение к 3-м суткам уровня *cGMP* в цереброспинальной жидкости больных, леченных семаксом ($p < 0,01-0,05$ по сравнению с группой «плацебо»), особенно при тяжелых формах инсульта (рис. 15.9).

Известно, что взаимосвязь между реакцией на активированной микроглии, оксидантного стресса и синтезом *cGMP* опосредуется через систему оксида азота. В связи с этим можно было предположить, что причиной торможения процессов ПОЛ, активации микроглии и снижения уровня *cGMP* является угнетение образования оксида азота, обусловленное как прямым действием семакса на молекулярные риггерные механизмы, так и его опосредованным влиянием через нормализацию баланса цитокинов и повышение уровня противовоспалительных факторов (схема 15.2). Эта гипотеза была подтверждена в экспериментальной работе, проведенной в лаборатории физиологии человека и животных МГУ им. М.В. Ломоносова на модели глобальной церебральной ишемии у крыс (А.А. Алексеев, В.Б. Копылев, К.С. Раевский и др.). Через 4 ч после двусторонней пересажки сонных артерий в ткани мозга животных определяли уровень оксида азота методом электронного парамагнитного резонанса. У экспериментальных животных, защищенных семаксом, установлен достоверно более низкий уровень *NO* по сравнению с таковым в контрольной группе — без нейропротекции ($p < 0,001$; рис. 15.10). Предотвращение нарастания концентрации *NO* на фоне глобальной церебральной ишемии в группе крыс, получавших семакс, сопровождалось достоверным уменьшением выраженности у них неврологического нарушения ($p < 0,05$).

С учетом статистически значимого снижения уровня *cGMP* на фоне терапии семаксом, а также экспериментальных данных о влиянии *cGMP* на процессы кальциевого тока через агонист-зависимые каналы глутаматных *NMDA* рецепторов представляло интерес проанализировать изменения титра аутоантител к фенциклидин-связывающему белку *NMDA* рецепторов у больных, получавших семакс и плацебо. Как было показано ранее (см. раздел 4.1.3), у всех обследованных, начиная с первых часов после развития инсульта, определяли повышенные титры аутоантител. Лечение семаксом вызывало достоверное снижение титра у тяжелобольных в период от 6 ч до 3 сут заболевания ($p < 0,01$ по сравнению с группой получавших плацебо, по методу *ANOVA*), что могло служить косвенным доказательством уменьше-

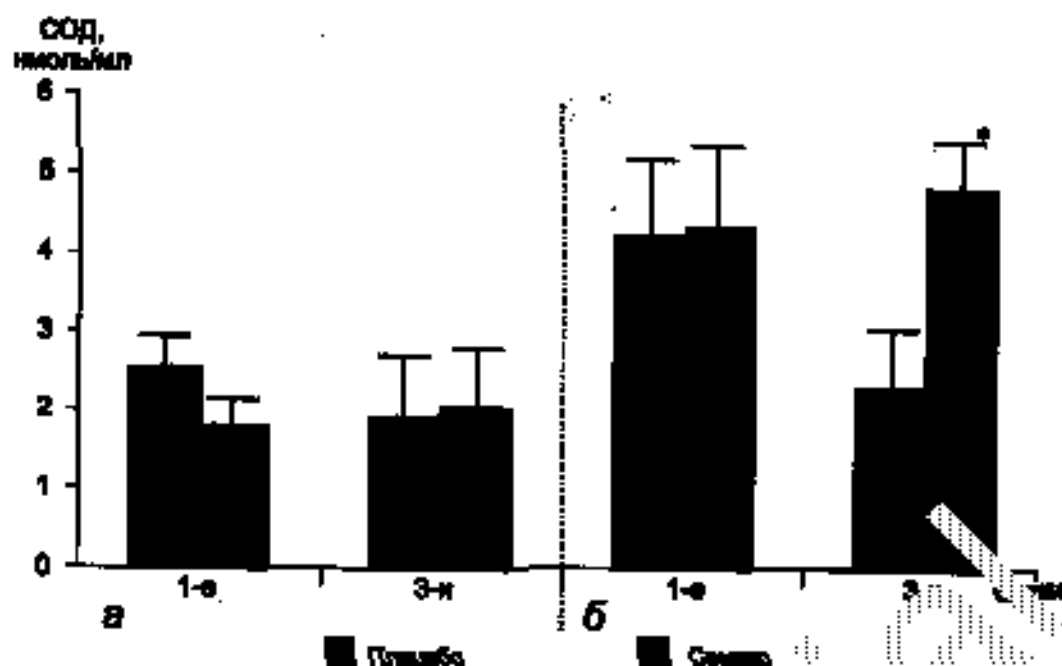


Рис. 15.8. Содержание СОД в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — инсульт средней тяжести; б — тяжелый инсульт. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$.

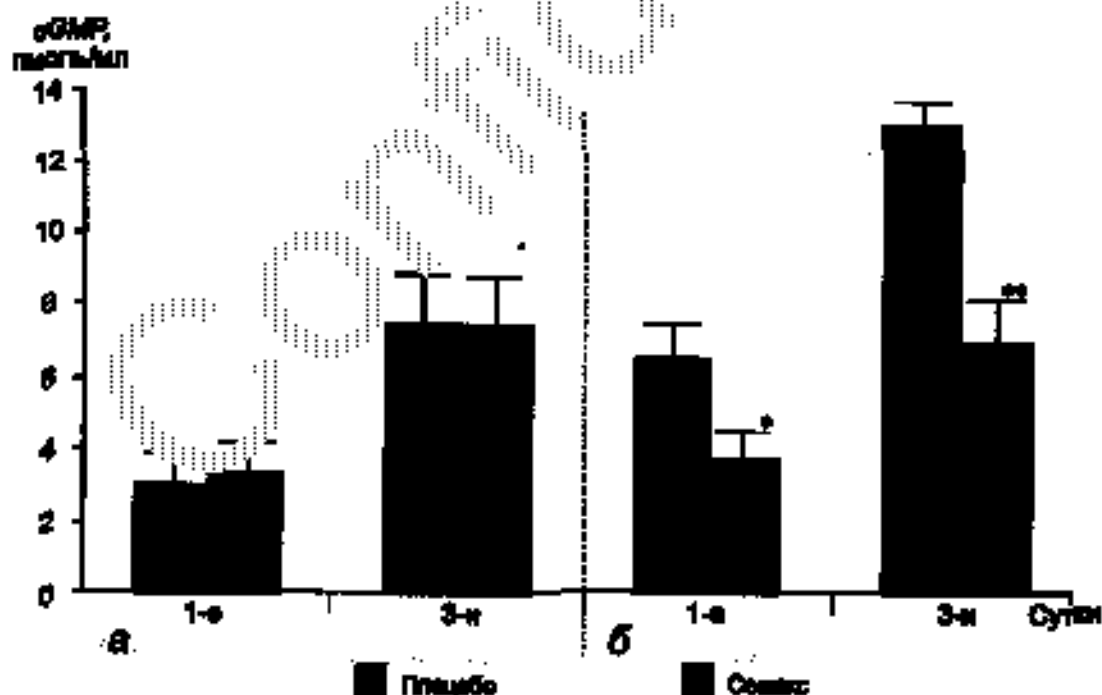
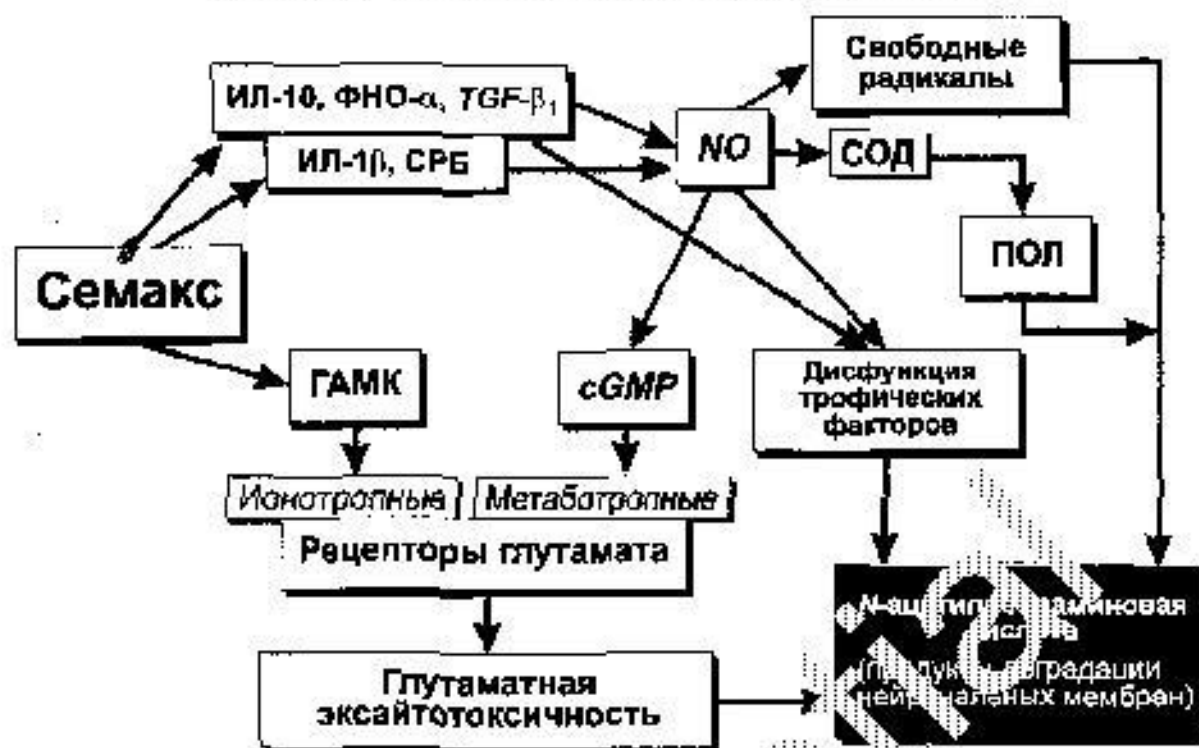


Рис. 15.9. Содержание sGMP в плазме крови больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — инсульт средней тяжести; б — тяжелый инсульт. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

Схема 15.2. Метаболические эффекты семакса



Здесь и на схеме 15.3: красными стрелками обозначены активации влияния, синими угнетение.

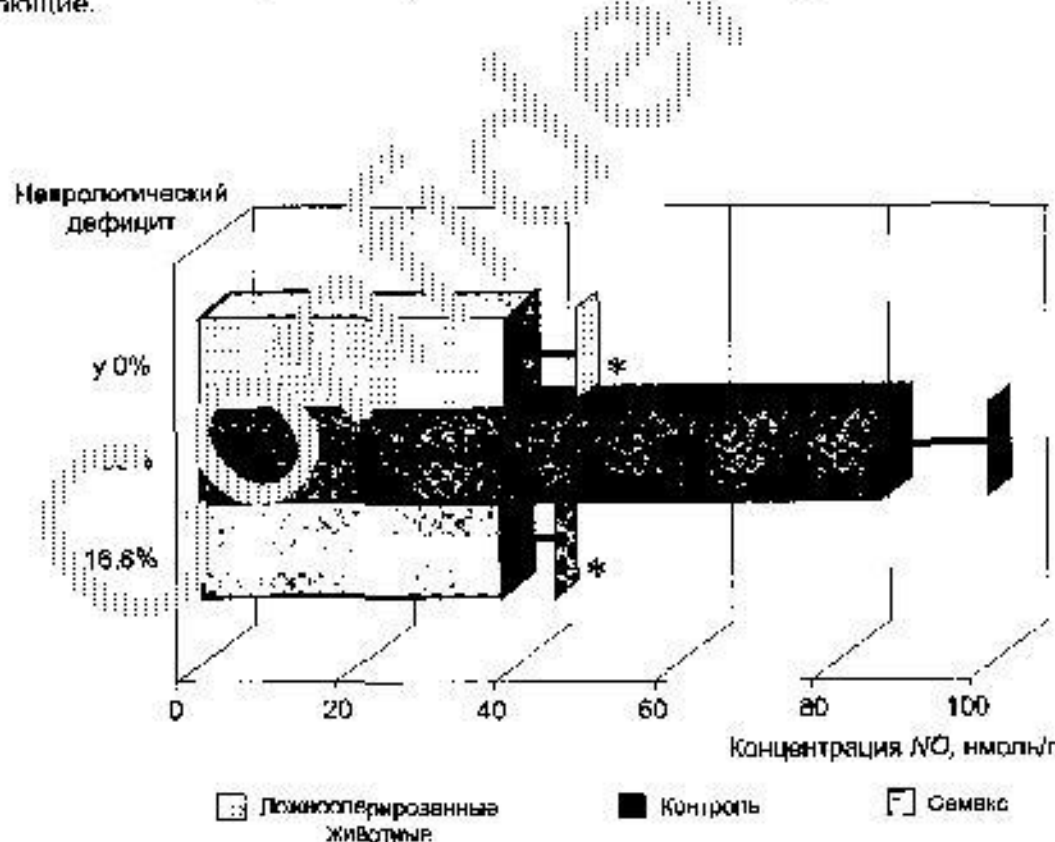


Рис. 15.10. Уровень NO в ткани мозга крыс через 4 ч после индукции глобальной церебральной ишемии

Достоверность различий с контролем: * $p < 0,001$.

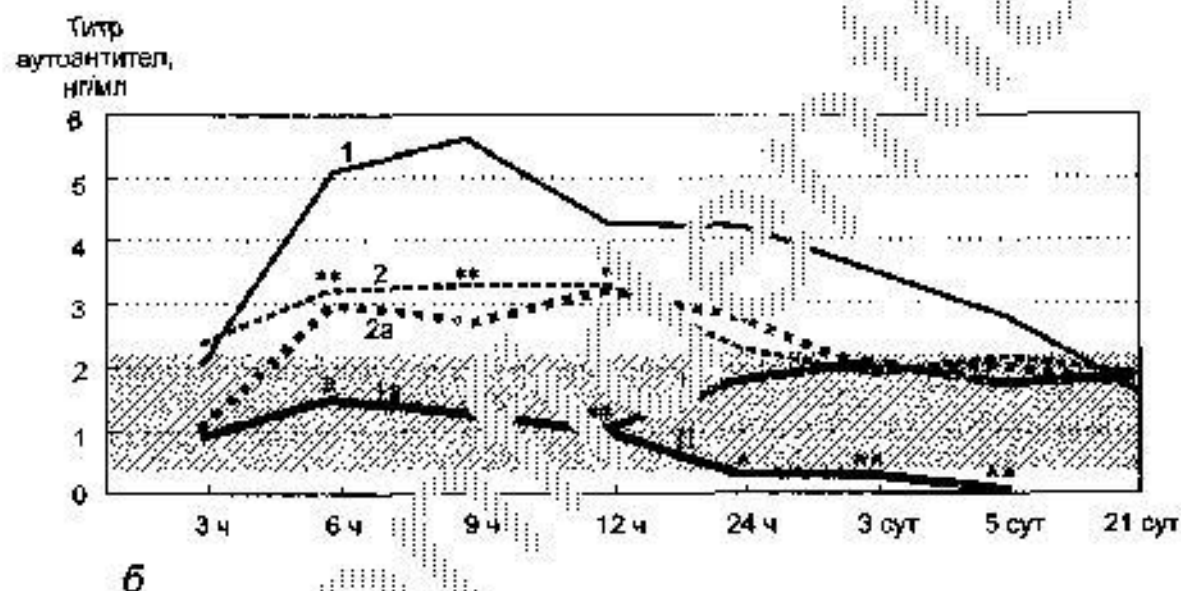
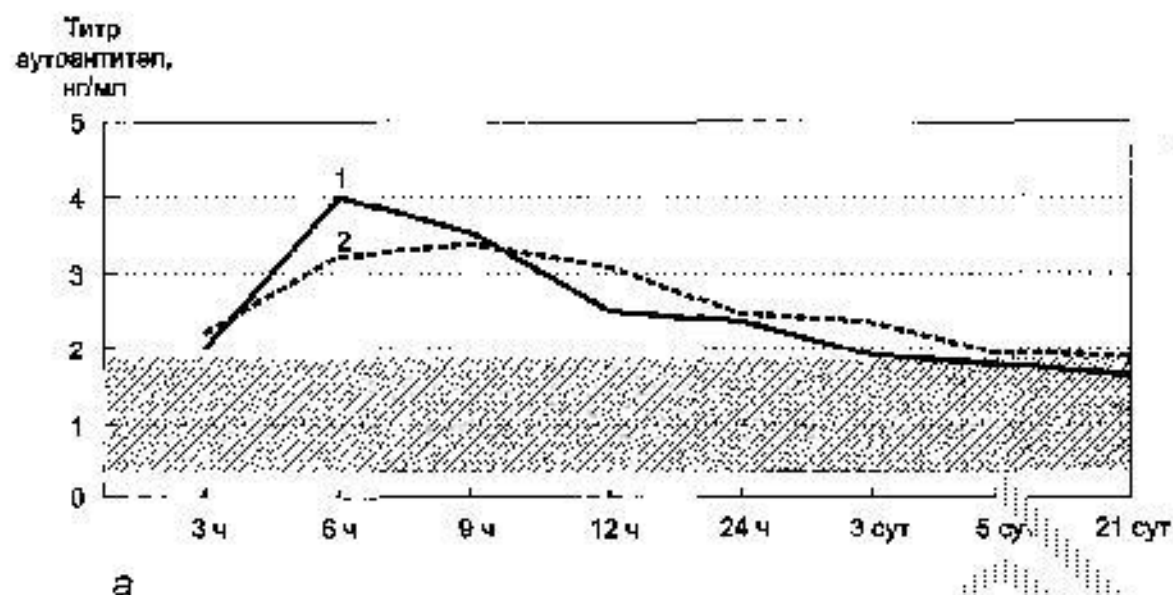


Рис. 15.11 Титры аутоантител к фенциклидин-связывающему болку глутаматных *NMDA* рецепторов в сыворотке крови больных, находящихся в состоянии средней тяжести (а) и тяжелом (б).

1 — плацебо, 2 — семакс; 1а и 2а — плацебо и семакс (соответственно) у больных в состоянии крайней тяжести; I — выжившие больные; II — умершие. Заштрихованная область — норма. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; достоверность различий с показателем у больных в состоянии крайней тяжести, принимавших семакс: # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$; достоверность различий с выжившими больными: Δ — $p < 0,05$, ΔΔ — $p < 0,01$.

ния дисфункции *NMDA* рецепторов, вызванной избытком экстрацеллюлярного глутамата (рис. 15.11).

При исследовании концентрации нейротрансмиттерных аминокислот в цереброспинальной жидкости с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии не обнаружено достоверных различий в концентрации глутамата и аспартата между группами больных, принимавших семакс и пла-

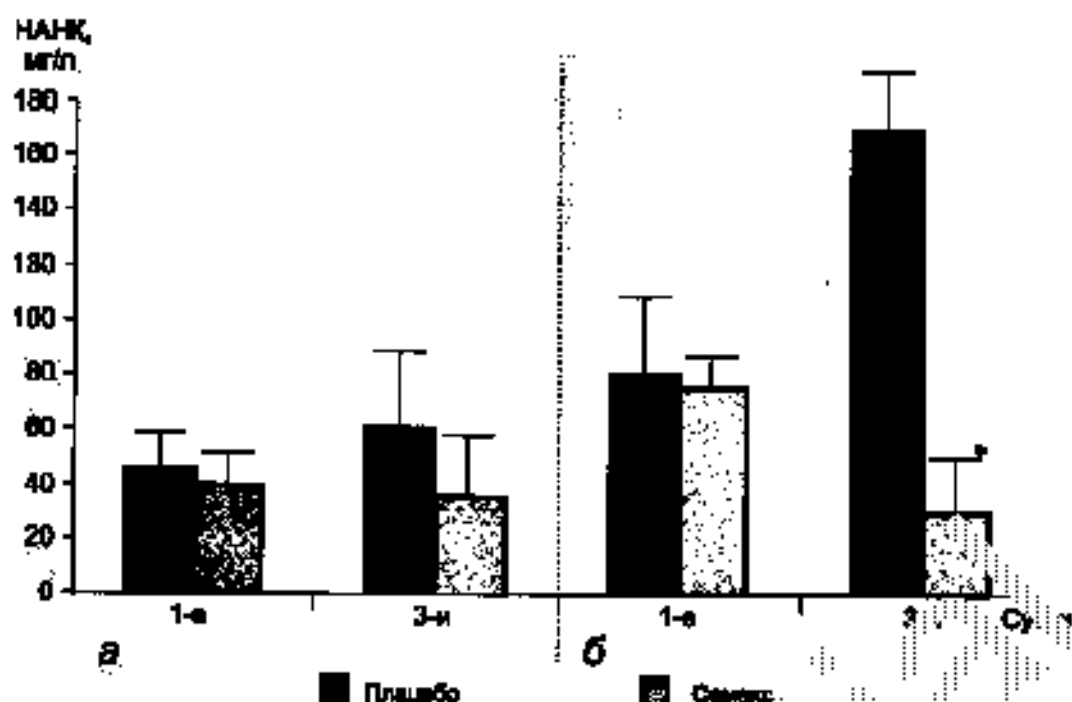


Рис. 15.12. Содержание НАНК в цереброспинальной жидкости больных с каротидным ишемическим инсультом.

а — инсульт средней тяжести; б — тяжелый инсульт. Для достоверности различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,01$.

цебо ($p > 0,05$). Вместе с тем было выявлено достоверное повышение уровня ГАМК у больных, леченных семаксом ($p < 0,01$ по сравнению с получавшими плацебо).

Таким образом, семакс вызывает цепочку метаболических превращений (схема 15.3): устраняет избыток цитокинов вследствие достоверного уменьшения уровня индукторов воспаления и повышения содержания противовоспалительных и нейротрофических факторов, что приводит к угнетению локальной воспалительной реакции и улучшению трофического обеспечения мозга. Помимо этого, результатом этого являются торможение генерации оксида азота и далее — повышение концентрации СОД, угнетение процессов ПОС и синтеза *cGMP*. Уменьшение продукции *cGMP* вызывает изменение активности и глутаматных рецепторов, что может оказывать влияние в целом на уровень глутаматной «эксайтотоксичности». Метаболические превращения, индуцированные семаксом, фактически образуют замкнутую цепь взаимосвязанных реакций, что, возможно, является одним из объяснений длительного положительного действия препарата.

Особую важность представляла оценка морфологических «результатов» выявленных метаболических изменений. Критерием морфологического повреждения была выбрана концентрация *N*-ацетилнейраминаовой кислоты, являющейся одним из основных продуктов деградации нейрональных мембран (см. раздел 4.3.1). При проведении исследования выявлено предотвращение повышения уровня *N*-ацетилнейраминаовой кислоты в цереброспинальной жидкости больных с инсультом средней тяжести и достоверное ($p < 0,01$ по сравнению с группой «плацебо») снижение ее концентрации у тяжелобольных на фоне лечения семаксом (рис. 15.12), что подтверждало нейропротективную направленность метаболических эффектов препарата.

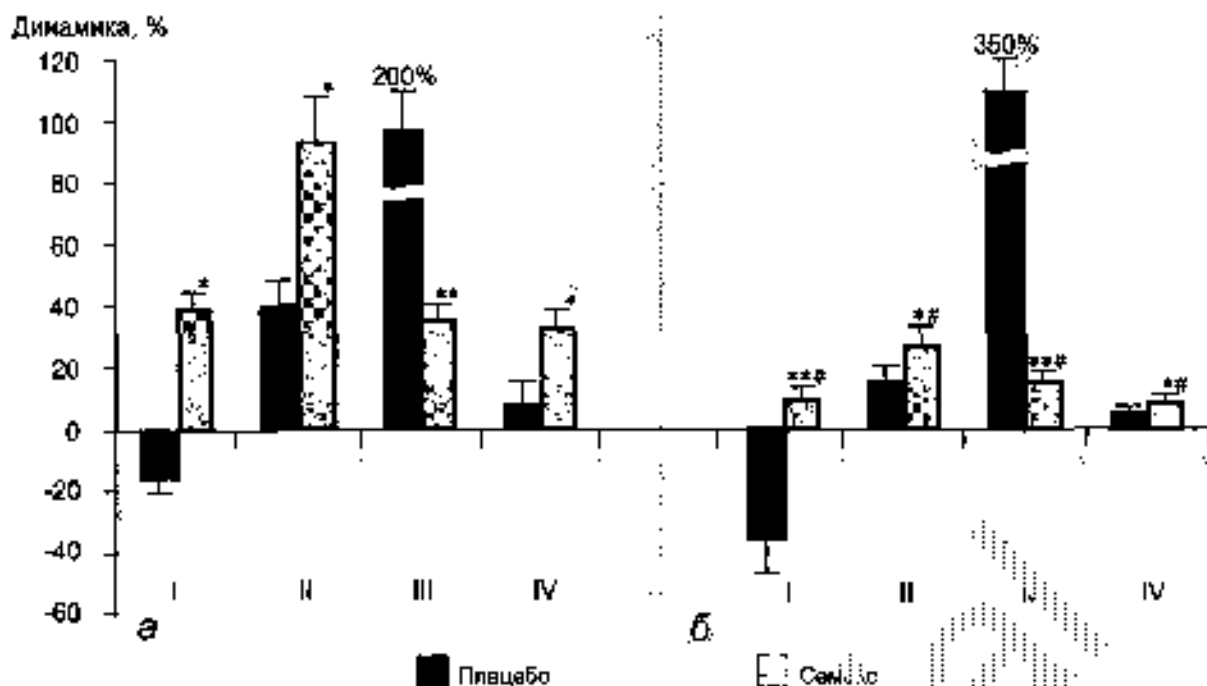


Рис. 15.13. Динамика иммунобиохимических показателей на 3-и сутки и суммарного клинического балла к 6 м суткам после развития каротидного ишемического инсульта в зависимости от времени начала терапии.

а — начало терапии в пределах 2–5 ч; б — начало терапии в пределах 6–12 ч. I — ФНО-α; II — ИЛ-10; III — СРБ; IV — суммарный клинический балл по шкале Ортогоса. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — достоверность различий с показателем в первые 2–5 ч; # — $p < 0,05$.

Сопоставительное изучение эффектов семакса в зависимости от сроков начала терапии (в первые 0–6 или 6–12 ч после развития инсульта) показало, что при раннем введении препарата (в 6-часовом интервале) нормализация иммунобиохимического паттерна была достоверно более выраженной и коррелировала с более ранним увеличением суммарного клинического балла (по шкалам Ортогоса и Скандинавской) и ускорением восстановления нарушенных неврологических функций (по индексу Бартела) (рис. 15.13).

Таким образом, проведенное сравнительное клинко-иммунобиохимическое исследование не только подтвердило целесообразность включения семакса в комплекс интенсивной терапии ишемического инсульта, но и позволило уточнить механизмы нейропротективного действия препарата. Установлены иммуномодуляторная и нейротрофическая активность семакса, сдвигающая баланс пептидергических систем мозга в сторону преобладания противовоспалительных и трофических защитных факторов (ИЛ-10, ФНО-α, *NGF*-β, *BDNF*) над факторами, поддерживающими воспалительную реакцию (ИЛ-8, СРБ); влияние препарата на процессы оксидантного стресса (синтез оксида азота, ПОЛ, антиоксидантную систему СОД), состояние глутаматных рецепторов и баланс нейротрансмиттерных аминокислот. Кольцевые цепи индуцированных семаксом метаболических реакций оказывают воздействия на все основные механизмы отдаленных последствий ишемии, что подчеркивает перспективность применения нейропептидных регуляторов с целью нейропротекции и обосновывает дальнейший поиск эффективных средств защиты.

15.6.1.4. Влияние семакса на функциональное состояние мозга больных с каротидным ишемическим инсультом

С целью изучения влияния семакса на функциональную активность мозга у 80 больных с каротидным ишемическим инсультом, клиническая характеристика которых приведена в предыдущей главе, было проведено нейрофизиологическое мониторирование, включавшее ЭЭГ с когерентным и частотно-спектральным анализом, топоселективным картированием (ТСК ЭЭГ), исследование соматосенсорных вызванных потенциалов (ССВП) головного мозга с их картированием (ТСК ССВП) [22, 129]. Исследования осуществляли при поступлении больного в клинику, на фоне первого применения препарата (семакса или плацебо) и в течение последующих 4 ч, а также повторно на 6-е сутки заболевания (по окончании курса лечения препаратом). Описание методов приведено в разделе 14.5.2.

На фоне первого введения семакса у 87 % (20 из 23) больных с инсультом средней тяжести наблюдали увеличение мощности основного α -диапазона, более выраженное в «интактном» полушарии, у ряда больных сопровождавшееся снижением мощности медленных δ , θ -диапазонов в проекции очага ишемии (рис. 15.14). Однако при статистическом сопоставлении усредненных по группе картограмм ЭЭГ до и после введения первой дозы препарата не выявлено достоверных изменений частотно-мощностных характеристик спектра ЭЭГ. В то же время уже после первого введения семакса регистрировали значительное нарастание когерентности по доминирующему α -ритму как внутри пораженного полушария, так и между полушариями (рис. 15.15). Увеличение тесноты связей α -колебаний затылочных долей являлось благоприятным прогностическим признаком, предшествуя дальнейшей нормализации основного ритма. К 6-м суткам инсульта у больных с состоянием средней тяжести, леченных семаксом, наблюдали более полную нормализацию паттерна ЭЭГ, чем в группе получавших плацебо: достоверное ускорение α -1-ритма в среднем на 1–2 Гц, билатеральное увеличение его мощности с регрессом межполушарной асимметрии (у 31,5 % — полным) (см. рис. 15.14). У больных, не имеющих при первом исследовании фокальных изменений на ЭЭГ (43,5 %; 10 из 23) к 6-м суткам не происходило формирования очага медленной δ -, θ -активности в проекции ишемического поражения, тогда как более чем у половины больных, получавших плацебо, формировался θ -фокус (4—6,9 Гц).

У 82,6 % (14 из 17) тяжелобольных из группы с применением семакса уже при первом исследовании регистрировали раннее фокальное увеличение амплитуды δ -, θ -активности в проекции очага ишемии. У 23,5 % (4 из 17) определяли нестабильные частотные спектры ЭЭГ с появлением билатеральной «вырывной» активности в диапазонах α - β -частот, что свидетельствовало о «раздражении» глубинных мезодиэнцефальных структур мозга. По окончании курса лечения семаксом у всех тяжелобольных были зарегистрированы стабильные частотные спектры ЭЭГ и снижение общего энергетического уровня спектра. Вместе с тем у 41,2 % (7 из 17) тяжелобольных фокальные изменения сохранялись на протяжении всего острого периода инсульта, что коррелировало с формированием стойкого очагового дефекта в неврологическом статусе.

При многоканальной записи ССВП различных модальностей выявлено преимущественное влияние семакса на состояние неспецифических проводящих систем мозга, более выраженное у больных, находившихся в состоя-

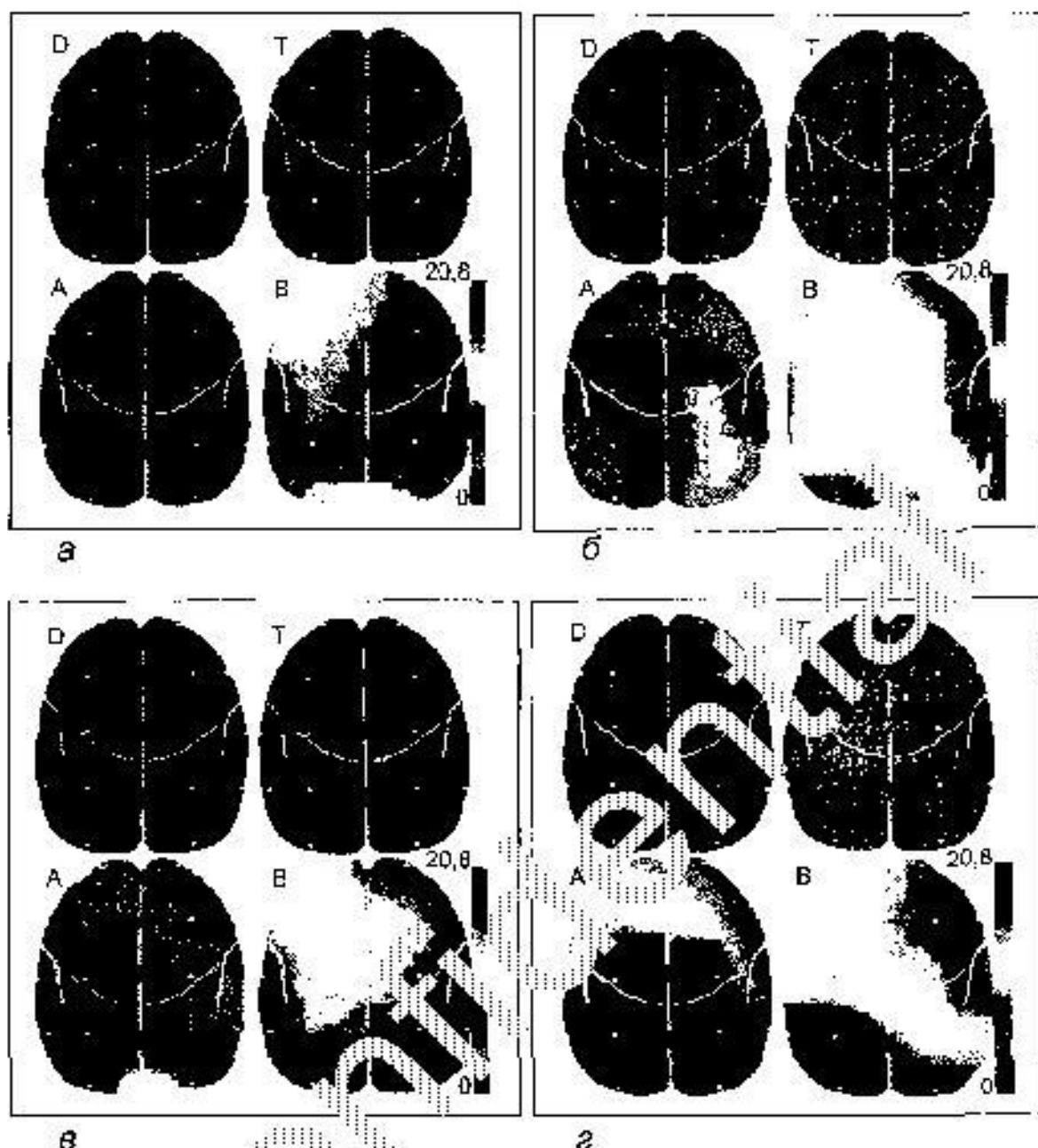


Рис. 15.14. Картограммы ЭЭГ больного К., 49 лет, в δ (D)-, θ (T)-, α (A)- и β (B)-диапазонах на фоне лечения семаксом.

а — первый день после развития ишемического инсульта в бассейне левой средней мозговой артерии (до введения семакса): низкий энергетический уровень частотного спектра ЭЭГ (менее $10 \text{ мкВ}^2/\text{Гц}$). Низкая мощность α -диапазона, нарушение зонального распределения θ -ритма (на фоне низкой мощности медленных частотных диапазонов определены умеренно выраженная межполушарная асимметрия (МПА) по θ -ритму, $S > D$); б — через 1,5 ч после первого введения 12 мг семакса: нарастание мощности α -1-диапазона (7—10 Гц) на 40—53% по сравнению с исходным уровнем, преимущественно в затылочно-центральных отведениях «интактного» полушария с формированием МПА, $S > D$, сохранение МПА по θ -ритму, $S > D$, при отсутствии тенденции к нарастанию его мощности; в — через 3 ч после первого введения семакса: стабилизация мощности α -диапазона на уровне, превышающем исходный на 30—35%, тенденция к регрессу МПА по α - и θ -ритмам; г — на 6-е сутки инсульта (по окончании курса лечения семаксом): средний энергетический уровень частотного спектра ЭЭГ ($40\text{—}60 \text{ мкВ}^2/\text{Гц}$) с доминантой частотой в α -1-диапазоне (9 Гц); билатеральное нарастание мощности α -диапазона с регрессом МПА и нормализацией зонального распределения, отсутствие тенденции к увеличению мощности δ - и θ -диапазонов, сохранение МПА по θ -ритму прежней выраженности. Частотные диапазоны: δ = 1,4—3,9 Гц; θ = 4,0—8,9 Гц; α = 7,0—11,9 Гц; β = 12,0—31,0 Гц.

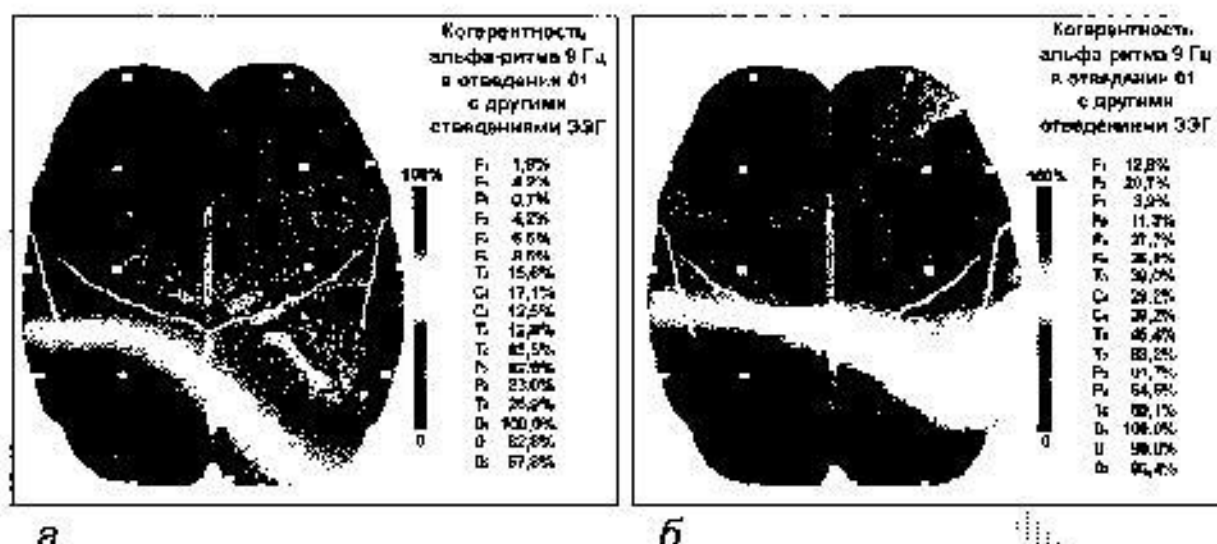


Рис. 15.15. Когерент-ый анализ по доминирующему α -ритму (9 Гц) между затялочным отведением пораженного полушария (О1) и другими ЭЭГ-отведениями.

а — до первого введения семакса; б — через 1,5 ч. Повышение когерентности и колебаний внутри пораженного полушария (с отведениями Т1, С1, Р1, F1, F2) и межполушарно (с отведениями О2, Т3, Р4, Т4, С4, F4 и др.)

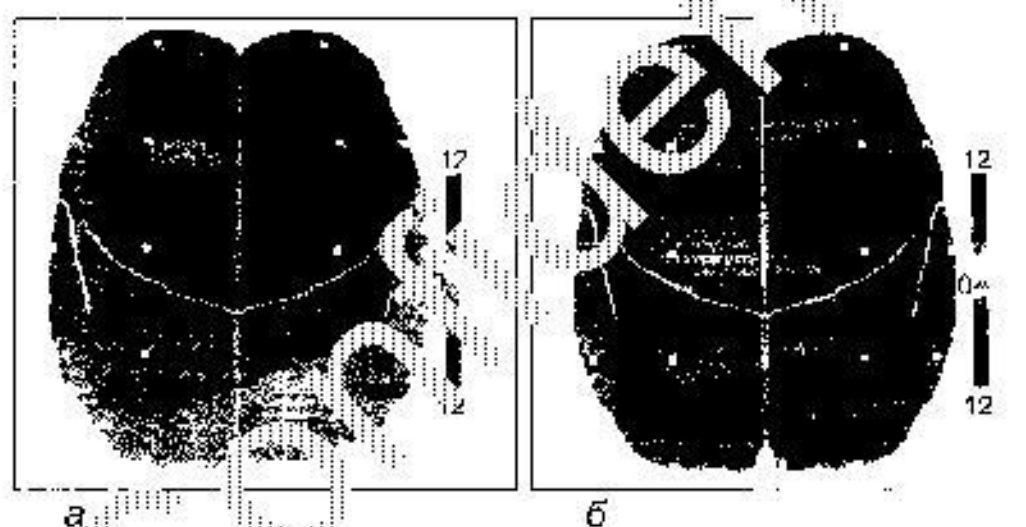


Рис. 15.16. Картограммы компонента P_{240} соматосенсорных вызванных потенциалов на фоне лечения семаксом.

а — до первого введения семакса (первые 6 ч заболорания); б — на 6-е сутки после развития инсульта (по окончании курса лечения семаксом). Увеличение амплитуды, уменьшение латентного периода и нормализация зонального распределения пика P_{240}

нии средней тяжести с исходно благоприятным прогностическим вариантом паттерна ЭЭГ. Первое введение семакса вызвало значительное увеличение амплитуд и уменьшение латентностей среднес- и длиннолатентных компонентов ССВП как в ишемизированном, так и в «интактном» полушарии. К 6-м суткам после развития инсульта данные тенденции сохранялись и нарастали, отмечалась достоверная нормализация зонального распределения длиннолатентных пиков (рис. 15.16).

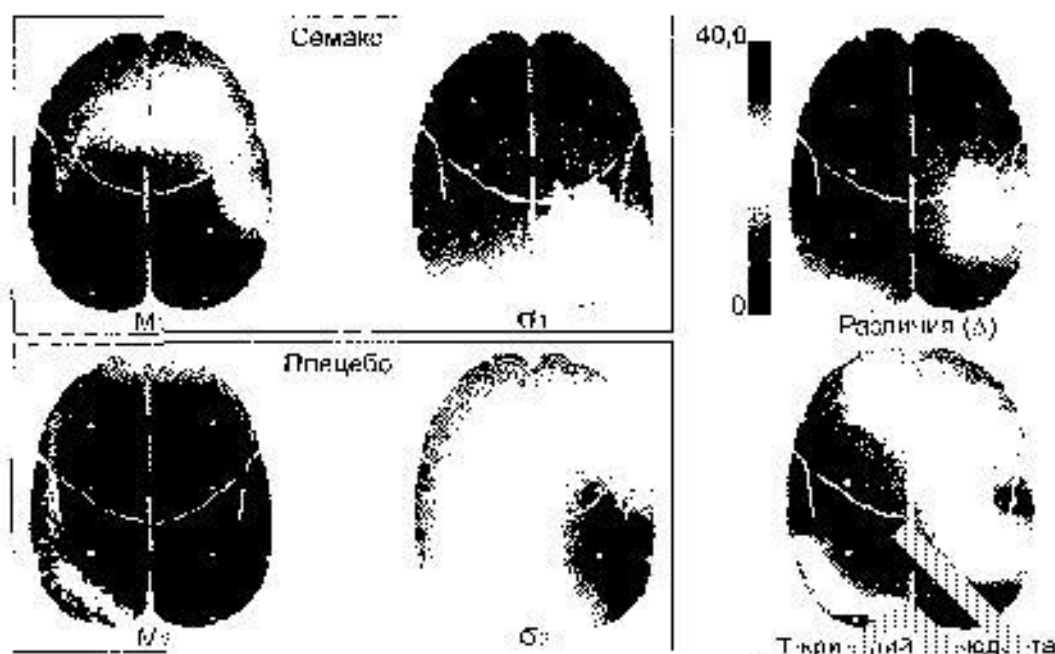


Рис. 15.17. Статистическое сравнение усредненных карт ритма ЭЭГ в α -диапазоне на 6-е сутки после разлития левополушарного инсульта у больных, леченных семаксом и плацебо.

M1 и M2 — усредненные карты ритма; G1 и G2 — стандартные карты ритма.

Таким образом, проведенный нейродиагностический мониторинг продемонстрировал более быструю и полную реорганизацию функционального состояния головного мозга у больных в остром периоде каротидного ишемического инсульта на фоне лечения семаксом. При анализе динамики спонтанной биоэлектрической активности мозга установлены достоверные позитивные изменения на топографических характеристиках и зонального распределения основного ритма ЭЭГ к 6-м суткам заболевания у больных, принимавших семакс (по сравнению с получавшими плацебо) (рис. 15.17), а также снижение амплитудной представленности δ - и θ -волн в проекции ишемизированной области мозга, в ряде случаев с предотвращением развития фокуса медленной активности, являющегося основным электрофизиологическим маркером инфаркта мозга. Значительная нормализация средне- и длинных патологических компонентов ССВН на фоне применения семакса отождала его благоприятное действие на неспецифические проводящие элементы мозга, что клинически проявлялось мощным ноотропным эффектом препарата.

15.6.1.5. Особенности действия семакса в остром периоде вертебрально-базилярного ишемического инсульта

Патогенетические и клинические особенности вертебрально-базилярных инсультов обусловили интерес к изучению действия семакса при острой фокальной ишемии стволово-мозжечковых структур мозга. В связи с этим семакс наряду с глицином был включен в рандомизированное плацебо-контролируемое исследование 100 больных в остром периоде вертебрально-базилярного ишемического инсульта (см. раздел 14.5.3).

Семакс получали 25 больных (15 мужчин и 10 женщин), из которых 16 (64 %) поступили в клинику в состоянии средней тяжести, 9 (36 %) — в тяжелом. Препарат вводили интраназально в суточной дозе 12 мг независимо от тяжести заболевания. Протокол исследования, методы клинического и комплексного нейрофизиологического контроля за действием семакса, глицина и плацебо были идентичными (см. раздел 14.5.3).

При первом введении семакса не оказывал существенного влияния на общее состояние больных, однако к концу курса лечения (на 6-е сутки) у всех обследованных был установлен значительный регресс общемозговых и очаговых неврологических симптомов, достоверно опередивший по выраженности показатели в группах больных, получавших плацебо ($p < 0,001$) и глицин ($p < 0,05$) (см. рис. 14.7). Положительное действие семакса проявлялось в равной степени при разных вариантах течения инсульта. Результаты оценки динамики отдельных очаговых проявлений свидетельствовали о преимущественном влиянии препарата на выраженность координаторных нарушений. Как и глицин, семакс оказался наиболее эффективным при раннем, в пределах первых 6 ч назначении.

Нейрофизиологическое изучение установило, что семакс оказывает более сильное позитивное действие на функциональные состояния сегментарных структур и сенсорных систем мозга по сравнению с глицином. Исследование коротколатентных стволовых вызванных потенциалов (КСВП) на акустическую стимуляцию показало, что семакс значительно быстрее нормализует проведение по слуховой сенсорной системе, чем глицин и плацебо. К 6-м суткам инсульта у всех 25 больных, леченных семаксом, отмечалась нормализация межпиковых интервалов $N1-N2$ и $N3-N5$ КСВП на стороне ишемического поражения, что отражало улучшение функционального состояния оральных отделов ствола мозга. В группах больных, получавших глицин и плацебо, подобная положительная динамика наблюдалась лишь в 49 и 23 % случаев соответственно [35].

Более выраженное действие по сравнению с глицином семакс оказывал на параметры раннего компонента центрального рефлекса, особенно у больных с наиболее грубым гемисферным поражением систем V и VII черепных нервов ($p < 0,05$). К 6-м суткам заболевания у них наблюдалась почти полная нормализация латентного периода раннего компонента — до $11,7 \pm 0,2$ мс (при норме $10,5-11,5$ мс), тогда как в группах больных, получавших глицин и плацебо, латентный период составлял $12,35 \pm 0,2$ и $12,85 \pm 0,3$ мс соответственно при исходной сопоставимости его значений.

В то же время влияние семакса на функциональное состояние неспецифических структур мозга, ответственных за регуляцию мышечного тонуса и трофики, было менее выраженным, чем глицина, что подтверждалось результатами исследования центрального эфферентного проведения по полисинаптическим кортико-стволово-спинальным путям и электронейромиографии (см. рис. 14.9). Динамика времени центрального эфферентного проведения и амплитуд центрального мышечного потенциала в паретичных конечностях по темпу и выраженности была сопоставима с таковой в группе получавших плацебо ($p > 0,05$).

Таким образом, в остром периоде вертебрально-базиллярного инсульта позитивное действие семакса, как и глицина, оказалось несколько менее выраженным, чем при полушарной локализации ишемии (поражении внутренних сонных артерий). Вместе с тем семакс достоверно улучшал восстановительную динамику, ускорял регресс общемозговых и очаговых неврологических нарушений у больных с инсультом разной степени тяжести, особенно при раннем его применении, а также оказывал нормализующее

влиянии на функциональное состояние сегментарных структур и сенсорных проводниковых систем ствола мозга. Все это свидетельствует о целесообразности использования семакса в комплексной терапии вертебрально-базиллярного инсульта, в том числе с целью создания благоприятного фона для реперфузионной терапии.

Подытоживая результаты проведенных рандомизированных клинических испытаний отечественного нейропептидного препарата семакса (АКТГ 4-10) в остром периоде ишемического инсульта, следует сделать заключение, что препарат безопасен, хорошо переносится больными, не обладает токсичностью и значимыми побочными эффектами.

Семакс оказывает сильное комплексное нейропротективное действие, основными компонентами которого являются иммуномодуляция, торможение глияльных реакций воспаления, улучшение трофического обеспечения мозга, торможение синтеза оксида азота и реакций оксидантного стресса. Индуцированные нейропептидом цепочки метаболических превращений усиливают и поддерживают друг друга, приводя к торможению большинства важных механизмов отсроченной смерти клеток.

Лечение семаксом наиболее эффективно при каротидном ишемическом инсульте, хотя положительные эффекты препарата проявляются и при вертебрально-базиллярной локализации сосудистого поражения. При интраназальном применении в суточной дозе 12—18 капель препарат снижает 30-дневную летальность, улучшает клинический исход инсульта и повышает степень функционального восстановления, особенно в случаях раннего начала терапии, в первые 6 ч заболевания. Положительное клиническое действие семакса коррелирует с его нормализующим влиянием на функциональную активность мозга, о котором свидетельствуют данные полимодалного нейрофизиологического мониторингирования.

Таким образом, первый представитель группы регуляторных нейропептидов — семакс прошел успешную апробацию в клинических условиях, что позволяет рекомендовать его в качестве вторичного нейропротектора к включению в комплекс интенсивной терапии ишемического инсульта. Дальнейшее изучение свойств семакса и родственных ему нейропептидов — производных АКТГ представляется перспективным в плане разработки новых действенных средств защиты мозга.

15.6.2. Производные вазоактивного интестинального полипептида

Интересно отметить, что нейропротективные свойства, близкие к описанным коротких фрагментов АКТГ, недавно были открыты у регуляторных нейропептидов других групп.

I. Gozes и соавт. [121, 122], C.Y. Spong и соавт. [225] установили нейропротективные эффекты производного вазоактивного интестинального полипептида (VIP) — нейропептида *NAP* (*NAPVSIPQ*), образуемого глияльной тканью в ответ на действие VIP. Установлено комбинированное защитное действие *NAP*, проявляющееся антиоксидантными и противовоспалительными эффектами. Нейропептид тормозит процессы ПОЛ, угнетает экспрессию генов ФНО- α и ИЛ-1 β , оказывает нейротрофическое влияние. Применение *NAP* через 1 ч после экспериментального ишемического инсульта приводило к достоверному уменьшению размеров инфаркта мозга у животных. В настоящее время начаты клинические испытания нейропептида.

15.6.3. Церебролизин

Церебролизин — гидролизат белковой вытяжки из головного мозга молодых свиней, содержащий 85 % аминокислот и 15 % пептидов [2]; 1 мл раствора церебролизина получают из 1 г вещества мозга животных. Активной фракцией препарата являются мозго-специфичные пептиды; аминокислоты, входящие в состав церебролизина, свободны и находятся в постоянной естественной связи друг с другом. Молекулярная масса пептидов церебролизина не превышает 10 000 Da, что исключает возможность развития анафилактических реакций [2], а также обуславливает легкое проникновение пептидов через гематоэнцефалический барьер и активное их включение в метаболизм нейронов головного мозга [10, 36].

Основными механизмами действия активной пептидной фракции церебролизина являются регуляция энергетического метаболизма мозга, собственное нейротрофическое влияние и модуляция активности эндогенных факторов роста, взаимодействие с системами нейропептидов, нейромедиаторов [2, 10, 144, 164, 229, 246].

Экспериментальные исследования показали, что церебролизин, с одной стороны, уменьшает потребность мозга в кислороде, фиксируя его повышенную резистентность к факторам ишемии-гипоксии, с другой — усиливает аэробный метаболизм, достоверно снижая уровень лактата в нервной ткани [10, 156, 248]. Стимуляция энергетического метаболизма церебролизином отличается особой гибкостью [30], обеспечивая оптимальный уровень АТФ в нейронах, гарантируя их от гиперпродукции макроэргических связей, что позволяет клеткам адекватно реагировать на энергозависимые задачи, такие как синтез алкалоидов и нейротрансмиттеров, функционирование ионных каналов и др.

Установлены антиоксидантные свойства препарата, обусловленные торможением процессов свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов [2], а также положительным влиянием на гомеостаз микроэлементов (магния, калия, кальция, марганца, ванадия), обладающих антиоксидантными свойствами [11].

В 70-х годах было продемонстрировано достоверное действие церебролизина на постнатальное развитие головного мозга, связанное со значительным усилением синтеза белков и полипептидов, активацией митохондрий в нейронах, изменением соотношения ДНК/РНК [221, 223]. Под влиянием препарата происходит ускорение дифференциации отдельных слоев мозговой коры, усиление роста и образования каликулярной сети [156]. Изучение механизмов действия церебролизина показало, что каждый из пептидов препарата выполняет специфические трофическую и модуляторную функции [2]: одни пептиды обладают самостоятельными нейротрофическими свойствами, другие индуцируют синтез эндогенного фактора роста нервов в астроцитах. Наряду с этим пептиды церебролизина активно взаимодействуют с нейротрансмиттерными системами, повышая функциональное взаимодействие нейронов и клеток глии, улучшая синаптическую передачу и пластичность ткани мозга. Нейротрофические эффекты препарата обуславливают повышенную выживаемость клеток мозга в условиях прекращения их нейротрофической поддержки со стороны клеток-мишеней и недостаточности кислорода и глюкозы [248].

В исследованиях, проведенных в последние годы, установлена способность церебролизина повышать экспрессию гена транспортера глюкозы (GLUT-1) через гематоэнцефалический барьер и, таким образом, увеличивать ее транспорт к головному мозгу в условиях экспериментальной ише-

мии [87,127]. Показано также, что нейротрофические свойства церебролизина связаны с защитой цитоскелета нейронов вследствие ингибирования кальций-зависимых протеаз, в том числе калпаина, и увеличения экспрессии микротубулярного кислого протеина 2 (MAP2) [144,146]. Наряду с этим церебролизин увеличивает аффинность связывания *BDNF* с его рецепторами [134]. Влияние препарата на $\alpha\kappa$ - β рецепторы нейротрофинов может свидетельствовать о вовлечении его в регуляцию естественных факторов роста. В экспериментальных исследованиях выявлена способность церебролизина предотвращать гиперактивацию микротубули и снижать продукцию ИЛ-1 β и других провоспалительных цитокинов, что отражает влияние препарата на выраженность местной воспалительной реакции и процессов оксидантного стресса в ишемизированной зоне мозга [179].

Установлено преобладающее действие церебролизина на состояние холинергических нейронов, сопровождающееся достоверным изменением уровня ацетилхолинэстеразы [156], что, по-видимому, является одним из механизмов ноотропного эффекта препарата. Доказано, что церебролизин стимулирует комплексное образование гормонов в аденогипофизе [222], оказывая модулирующее действие на молекулярные механизмы «включения» стресс-реализующей системы.

Изучение безопасности церебролизина у здоровых добровольцев и в ограниченных группах больных свидетельствовало о отсутствии токсичности препарата и крайне редком возникновении его побочных эффектов, главным образом при быстром инфузионном введении (снижение порога судорожной готовности мозга). После введения больших доз церебролизина (30—50 мл) у 0,29 % обследованных появлялась быстро проходящая головная боль и чувство жара. Установлено ограничение к назначению препарата: судорожные припадки, почечная недостаточность, первый триместр беременности.

Многогранные метаболические эффекты церебролизина, данные о нейротрофическом, нейромодуляторном, антигипоксическом и антиоксидантном его действии, а также, как отмечено, безопасность и хорошая переносимость препарата [2, 10] создают предпосылки для его применения в клинических условиях. Прежде всего была установлена ноотропная эффективность церебролизина, которую успешно использовали при лечении больных с хроническими формами ишемической болезни мозга [83, 134, 167, 195, 198, 224]. При тучной, циркуляторной энцефалопатии церебролизин повышает эффективность когнитивных процессов в мозге, улучшает умственную активность, мнестическую деятельность, внимание, стабилизирует эмоциональный фон [13, 67, 120, 135].

У больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения церебролизин начали применять с середины 70-х годов [31, 41, 44], однако использовали преимущественно ноотропные эффекты малых (1—2 мл) доз препарата. Церебролизин назначали по окончании острейшего периода инсульта (не ранее чем через 5—7 дней после начала заболевания), в связи с чем не было зарегистрировано его влияния на дальнейшее течение заболевания и регресс очаговых неврологических симптомов, отмечено лишь уменьшение выраженности апатии и депрессии на фоне лечения препаратом. При попытках применить малые дозы церебролизина в позднем восстановительном периоде инсульта также не наблюдалось значимой положительной клинической динамики [61].

В конце 80-х годов впервые была обоснована целесообразность применения высоких доз церебролизина (более 10 мл) для реализации заложенных в препарате нейропротективных свойств. Мета-аналитические исследова-

дования церебролизина, в которых участвовали более 2 тыс. больных с ишемическим инсультом [246], позволили сделать вывод о необходимости максимально раннего назначения препарата, так как установлена обратная зависимость его эффективности от времени, прошедшего после развития инсульта до первого введения. Показано, что в остром периоде заболевания суточная доза церебролизина может достигать 50 мл (внутривенно капельно 1 раз в день на протяжении 2—3 нед), на стадии реабилитации — 30 мл (внутривенно капельно однократно на протяжении 3—4 нед). Выводы о преобладающей эффективности высоких доз препарата были подтверждены в последующих работах [27, 165, 202, 226]. Результаты проведенного в Австрии мультицентрового испытания церебролизина у больных в остром периоде каротидного ишемического инсульта, продемонстрировали преимущества суточной дозы 30—50 мл по сравнению с 10—30 мл. При применении 30—50 мл препарата отмечались более полный регресс неврологических симптомов к концу острого периода заболевания и достоверное улучшение функционального восстановления и навыков самообслуживания больных в отдаленном периоде [228].

15.6.3.1. Мониторное клинико-нейрофизиологическое изучение дозозависимой эффективности церебролизина при ишемическом инсульте

Для изучения нейропротективных эффектов церебролизина и отработки оптимальных доз препарата в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета было проведено обследование 50 больных (30 мужчин и 20 женщин, средний возраст $59,5 \pm 10,6$ года) в остром периоде каротидного ишемического инсульта, поступивших в стационар не позднее 12 ч от момента развития заболевания [16, 23, 58, 65]. Критериями «включения» больных в исследование являлись клинический диагноз первого в жизни ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии, возраст 45—75 лет, полное сознание или умеренные расстройства сознания до уровня сопора, начало терапии в первые 12 ч после начала заболевания. Из исследования исключали пациентов с повторными инсультами и остаточными явлениями острых нарушений мозгового кровообращения, с другими неврологическими заболеваниями или тяжелой соматической патологией, стабильной декомпенсацией, а также больных с острым инфарктом миокарда в течение предыдущих 6 нед) или атриовентрикулярной блокадой I—III степеней.

Препарат вводили с первых часов после развития инсульта внутривенно медленно (через кубитальный катетер) в суточной дозе 10, 20 или 30 мл в течение 5 дней на фоне максимально унифицированной терапии, включавшей гемодилюцию, гепарин в низких дозах (при необходимости), аспирин и осмотические диуретики (при необходимости). Другие препараты с потенциальным нейропротективным действием (блокаторы кальциевых каналов, глицин, пирацетам, семакс и т.д.) не использовали. Первое введение церебролизина осуществляли в 2 этапа: соответственно 2 и 8 мл, 10 и 10 мл, 20 и 10 мл с интервалом в 1 ч, что позволяло анализировать влияние разных доз препарата на функциональное состояние головного мозга. Контрольную группу составили 60 больных, получавших лишь стандартизованную «фоновую» терапию без включения нейропротекторов.

Базисная оценка состояния больных включала общее и неврологическое обследование, анализ данных ЭКГ, клинических и биохимических анали-

зов крови и cerebrospinalной жидкости. Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита использовали оригинальную шкалу [17]. На момент госпитализации у 20 (40 %) больных, получавших церебролизин, состояние было оценено как средней тяжести, у 30 (60 %) — как тяжелое. Исход функционального восстановления оценивали по индексу Бартела [123, 180].

Мониторирование АД, частоты сердечных сокращений и ЭКГ проводили в течение первых 12 ч после начала терапии и на 5-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки. Неврологический статус оценивали при поступлении пациентов, по окончании лечения церебролизинном (на 6-й день) и в конце исследования (на 30-е сутки). Смертность и побочные эффекты препарата отслеживали в течение всего исследования (30 дней). Безопасность терапии контролировал специально созданный комитет, который рассматривал все случаи летального исхода и возникновения побочных эффектов.

В качестве основных «конечных точек» исследования были выбраны безопасность препарата, степень регресса неврологического дефицита по оригинальной шкале, степень функционального восстановления по индексу Бартела и 30-дневная летальность.

Для изучения влияния церебролизина на функциональное состояние головного мозга было проведено нейрофизиологическое мониторирование спонтанной биоэлектрической активности мозга с помощью ЭЭГ с частотно-спектральным анализом и ТСК ЭЭГ, а также исследование ССВП с их картированием. Комплекс исследований осуществлялся при поступлении больного в клинику, на фоне первого введения препарата и в течение последующих 4 ч, а также повторно на 6-е (по окончании курса лечения церебролизинном) и 21-е (по окончании острого периода) сутки инсульта. Описание методов приведено в разделе 1.5.2.

Статистический анализ не связанных зависимостей проводили с помощью U-теста Манна—Уитни для сравнения динамики суммарного клинического балла. Летальность оценивали с помощью теста Фишера. Корреляционному анализу были подвергнуты значения прироста суммарных клинических баллов по использованным шкалам. Для всех тестов был выбран двусторонний 5 % уровень значимости.

Сравнительный анализ групп больных, получавших церебролизин и плацебо, свидетельствовал об их сопоставимости по демографическим показателям, этиологии инсульта и тяжести состояния на момент госпитализации, что обуславливало возможность сравнительного изучения динамики клинических и нейрофизиологических показателей.

У 90 % больных с инсультом средней тяжести, получавших церебролизин, отмечали регрессивное течение инсульта со стабильным регрессом неврологических нарушений, что значительно превышало аналогичный показатель контрольной группы (70 %). Установлено достоверное ускорение регресса неврологического дефицита по оригинальной шкале ($p < 0,001 - 0,05$) к 6-м и 30-м суткам заболевания (табл. 15.8). Количественная оценка динамики очаговых симптомов подтвердила улучшение восстановления двигательных ($p < 0,005$) и чувствительных ($p < 0,05$) функций на фоне лечения церебролизинном. К концу острого периода инсульта у 18 (90 %) из 20 больных с состоянием средней тяжести было зарегистрировано хорошее восстановление нарушенных неврологических функций (по индексу Бартела), тогда как в контрольной группе этот показатель составлял 63,3 % (19 из 30). Сравнительный анализ эффективности церебролизина в зависимости от суточной дозы свидетельствовал о преобладающем действии при инсультах средней тяжести 10 мл препарата (рис. 15.18). Эта доза вызывала статис-

тически значимое ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) опережение темпов и выраженности клинической динамики. Вместе с тем использование более высоких доз (20 и 30 мл) не приводило к улучшению восстановительных процессов ($p > 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Средние значения прироста клинического балла к 6-м и 30-м суткам были достоверно ($p < 0,01-0,05$) выше в группе больных, получавших церебролизин в дозе 10 мл по сравнению с пациентами, которым препарат вводили в дозах 20 и 30 мл.

Таблица 15.8. Прирост суммарного клинического балла при каротидном ишемическом инсульте на фоне лечения церебролизинном (М±m)

К 6-м суткам заболевания				
Инсульт средней тяжести	2,12±0,33	5,33±0,86**	2,81±1,3*	2,1±1,1*
Тяжелый инсульт	1,6±1,23	6,13±1,3**	2,71±1,5**	1,3±1,03**
К 30-м суткам заболевания				
Инсульт средней тяжести	4,59±0,48	7,1±1,16**	7,1±1,16**	3,9±1,2**
Тяжелый инсульт	6,50±1,5	12,5±1,5**	13,1±1,5**	7,3±1,4**

Примечания. 1. Достоверность различий с контрольной группой: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$. 2. Достоверность различий по сравнению с дозой 10 мл церебролизина: # — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$. 3. Достоверность различий по сравнению с 20 мл церебролизина: ^ — $p < 0,05$; ^^ — $p < 0,01$.

Статистическое сопоставление показателей клинической динамики у тяжелобольных также показало достоверное опережение темпов клинического восстановления к 6-м и 30-м суткам заболевания при лечении церебролизинном по сравнению с аналогичной по тяжести контрольной группой ($p < 0,001-0,05$). Ускорение регресса общемозговых и очаговых симптомов было особенно интенсивным в первые дни заболевания (на фоне введения нейропротектора), поскольку превалировало при левополушарной локализации инсульта по сравнению с поражением правого полушария). У 80 % (24 из 30) тяжелобольных, получавших церебролизин, определяли регрессирующее течение заболевания (в контрольной группе — у 56,7 %; 17 из 30). Установлено достоверное снижение летальности в группе тяжелобольных, леченных церебролизинном (6,7 %; 2 из 30), по сравнению с контрольной группой (23,3 %; 7 из 30; $p = 0,05$). Изучение дозозависимого действия церебролизина свидетельствовало о более высокой эффективности при тяжелом инсульте суточной дозы 20 мл (см. рис. 15.18). Введение препарата в дозе 30 мл приводило к достоверно меньшему приросту клинического балла ($p < 0,01-0,05$ по сравнению с 20 мл).

Проведенное исследование не выявило каких-либо побочных эффектов церебролизина. Не зафиксировано его влияния на показатели системной гемодинамики, не отмечено аллергических реакций, проходящей головной боли и других жалоб после введения препарата. Церебролизин хорошо переносился все больные.

Визуальный анализ спонтанной биоэлектрической активности мозга на фоне введения первой дозы церебролизина не определил какого-либо зна-

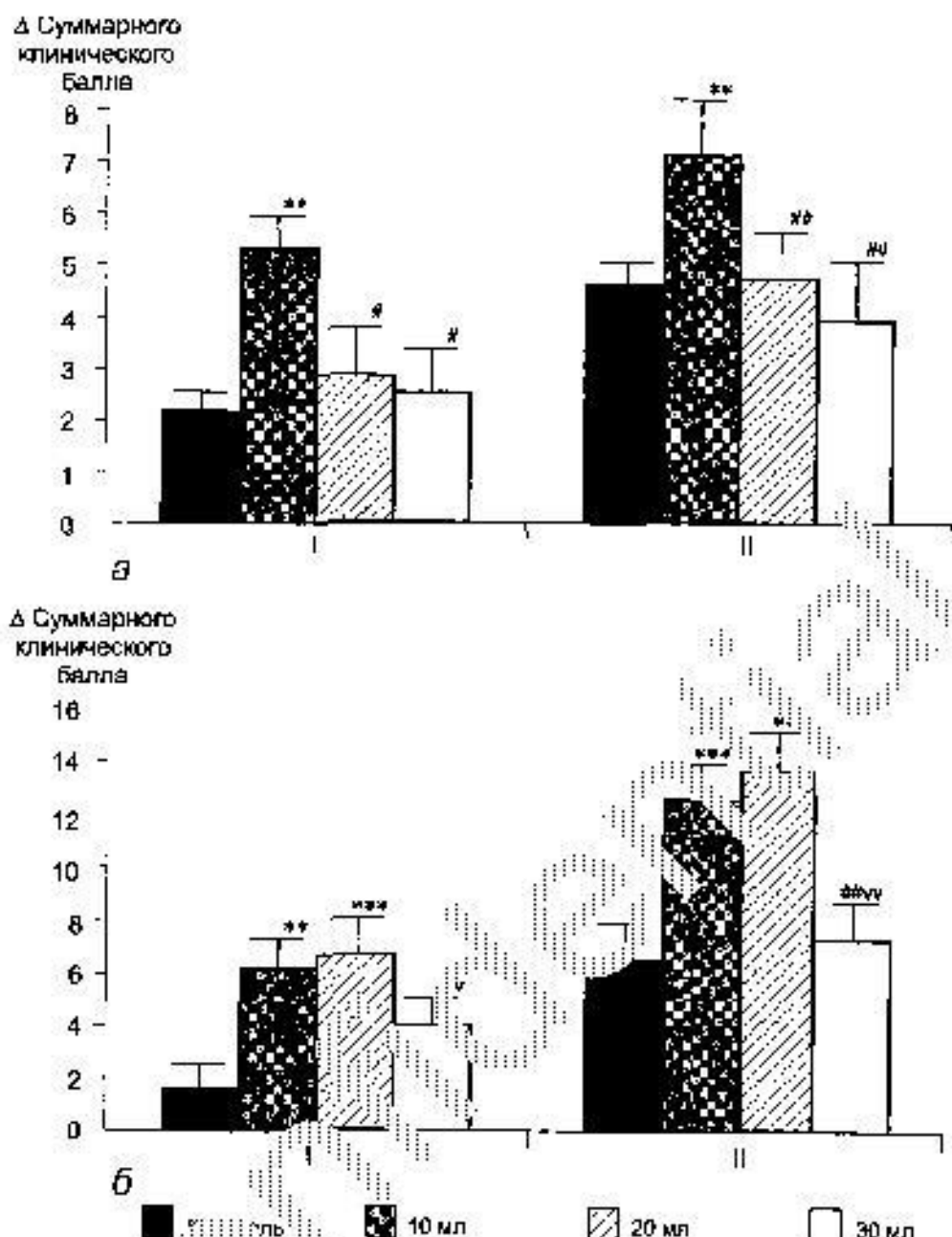


Рис. 15.18. Динамика суммарного клинического балла к 6-м и 30-м суткам каротидного (а) и среднего (б) инсульта на фоне лечения церебролизином.

а — инсульт средней тяжести; б — тяжелый инсульт. 6-е сутки: II — 30-е сутки. Достоверность различий с контролем: * — $p < 0.05$, ** — $p < 0.01$, *** — $p < 0.001$, достоверность различий по сравнению с показателем после введения 10 мл церебролизина: # — $p < 0.05$, ## — $p < 0.01$, достоверность различий по сравнению с показателем после введения 20 мл церебролизина: v — $p < 0.05$, w — $p < 0.01$.

чимого действия на ЭЭГ малых (1—2 мл) доз препарата. У больных с инсультом средней тяжести при увеличении дозы до 10 мл отмечалось усиление синхронизирующих влияний, наиболее отчетливо проявившееся в режиме гипервентиляции. Выраженность синхронизирующего эффекта была индивидуальной, преобладала у пациентов с исходно гиперсинхронным типом ЭЭГ и признаками критической глубины мезолизицефальных структур мозга. В случаях исходно низкой амплитуды биоэлектрической

активности и десинхронного характера ЭЭГ действие 10 мл церебролизина, по данным визуальной оценки, было минимальным и выявлялось только при функциональных нагрузках. Усиление синхронизирующих влияний, как правило, сочеталось с некоторым уменьшением выраженности межполушарной асимметрии за счет нарастания α -индекса в ишемизированном полушарии. Применение более высоких доз церебролизина (20 и 30 мл) сопровождалось значительным нарастанием синхронизации биоэлектрической активности мозга, в 60 % случаев — усилением α -активности по индексу и амплитуде, появлением заостренных α -волн, сглаживанием зональных различий по α -ритму, в 30 % случаев — появлением коротких вспышек θ -волн средней и высокой амплитуды, преимущественно в лобных отделах мозга.

У тяжелобольных введение церебролизина в дозе 10 мл приводило лишь к кратковременной (на 30—40 минут) экзальтации основных ритмов ЭЭГ, увеличению амплитуды α -колебаний при сохранении основных тенденций, имевших место в фоновой записи. Увеличение дозы до 20 мл вызывало стойкое увеличение амплитуды и частоты α -ритма, уменьшение выраженности межполушарной асимметрии. У 2 (20 %) из 10 больных повторное введение 10 мл препарата (до суммарной дозы 20 мл) сопровождалось значительным увеличением представленности диффузных медленных колебаний. При введении 30 мл церебролизина наиболее характерными реакциями были замедление биопотенциалов, усиление θ - и δ -активности, сопровождавшиеся ослаблением реакции наязывания ритма световых раздражений. Аналогичная реакция была описана ранее при использовании ГОМК для лечения больных с тяжелыми ишемическими инсультами [30].

При компьютеризированном анализе ЭЭГ с помощью картирования биоэлектрической активности обнаружена стереотипная последовательность реакций мозга на введение и увеличение дозы церебролизина. Действие препарата отчетливо проявлялось через 7—15 мин после его введения синхронизацией ЭЭГ, увеличением мощности и частотного спектра, преимущественно за счет доминирующих ритмов — соответственно начальному паттерну ЭЭГ. Если начальная доза церебролизина была недостаточной, данные изменения регистрировались лишь в течение 40—60 мин, после чего наблюдали возврат к исходной картине ЭЭГ (рис. 15.19). В случаях применения адекватной дозы вслепую за первой стадией преобразования биоэлектрической активности через 30—40 мин после введения препарата, отмечали тенденцию к качественной нормализации паттерна ЭЭГ: стойкому увеличению мощности, нестаторному частотному ускорению α - и β -волн, уменьшению выраженности межполушарной асимметрии по α -активности, снижению мощности и ограничению зонального распространения δ - и θ -волн в ишемизированном полушарии (см. рис. 15.19). В этих наблюдениях к 6-м суткам колебания определяли наиболее полную нормализацию паттерна ЭЭГ в виде достоверного регресса межполушарной асимметрии по α -1-диапазону и предотвращения формирования (или минимальной выраженности) очага медленной активности в проекции ишемизированной области мозга, клиническим коррелятом чего являлось наиболее полное восстановление нарушенных неврологических функций (см. рис. 15.19). Введение неадекватно высокой дозы церебролизина вызывало достоверное нарастание мощности частотного спектра ЭЭГ, преимущественно за счет медленных частотных диапазонов, особенно в пораженном полушарии, а также признаки активации срединно-стволовых образований мозга в виде появления гиперсинхронных билатеральных разрядов θ - α -волн (рис. 15.20). При этом к концу 1-го часа мониторингирования отсутствовала тенденция к

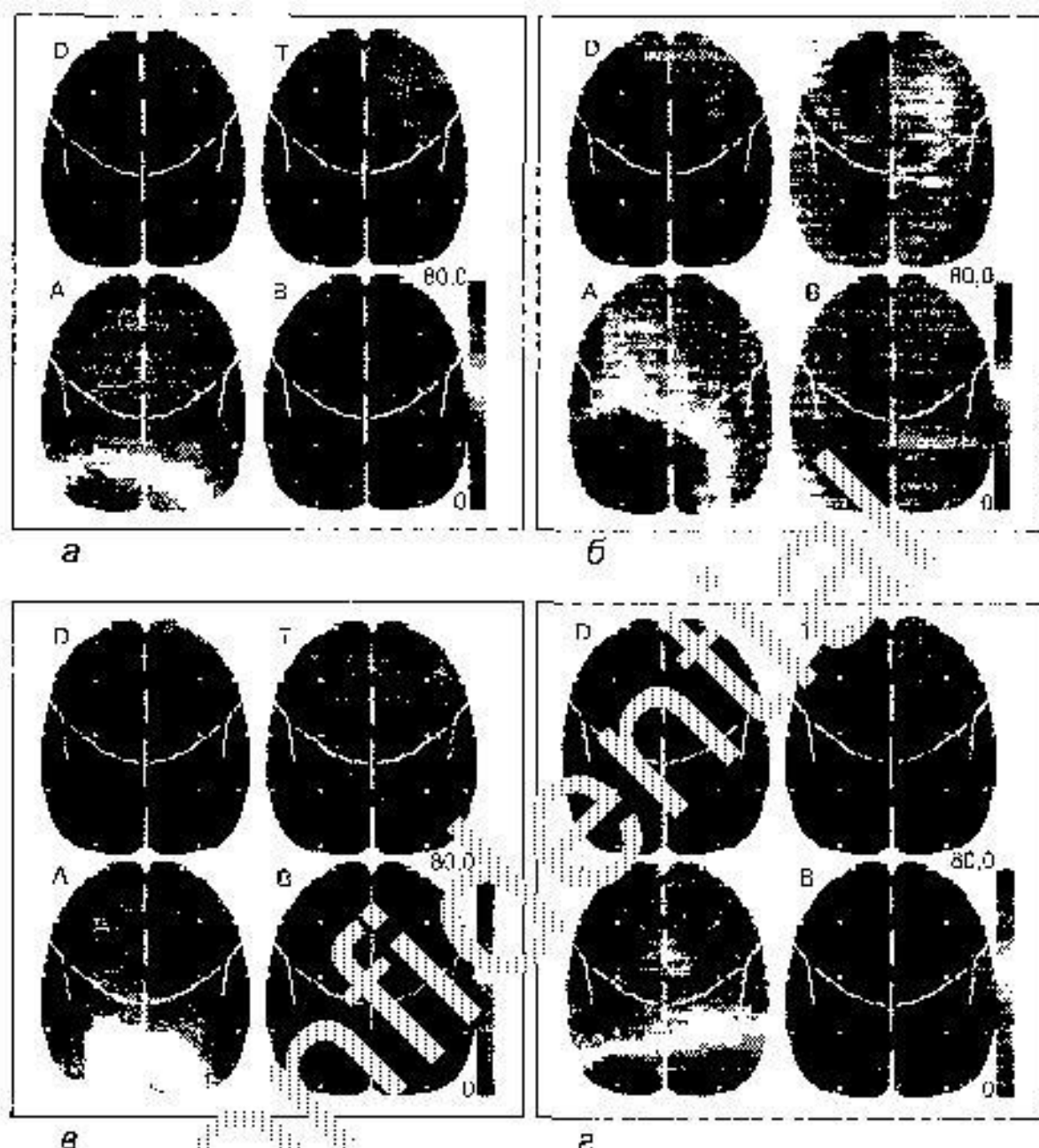


Рис. 1 — Карты топографии ЭЭГ больного Б., 37 лет, в δ (D)-, θ (T)-, α (A)- и β (B)-диапазонах на фоне течения цереброваскулярной патологии.

а — первые 12 ч после развития ишемического инсульта в системе правой внутренней сонной артерии (до введения цереброваскулярной терапии); средний спектральный уровень частоты и спектра ЭЭГ (δ — 1,4–3,9 Гц, θ — 4,0–6,9 Гц, α — 7,0–11,9 Гц, β — 12,0–31,0 Гц) по выраженности ритма в заданных отведениях. $D < 5$, $\theta < 6$, $\alpha < 7$, $\beta < 8$; *б* — через 40 мин после введения 2 мл цереброваскулярной терапии; *в* — через 40 мин после дополнительного введения 8 мл цереброваскулярной терапии; *г* — на 6-е сутки после развития инсульта (по окончании курса лечения цереброваскулярной терапией в суточной дозе 10 мл); нормализация паттерна ЭЭГ (стойкое билатеральное увеличение мощности α -диапазона с регрессом МПА; уменьшение мощности и фокальной θ -активности). Частотные диапазоны: δ — 1,4–3,9 Гц; θ — 4,0–6,9 Гц; α — 7,0–11,9 Гц; β — 12,0–31,0 Гц.

нормализации паттерна ЭЭГ. Особенно опасной «передозировка» цереброваскулярной терапией была у больных с изначально неблагоприятным прогностическим паттерном ЭЭГ [55, 65], так как в этих случаях наблюдалось «укрепление» отрицательных тенденций, имевших место в исходном паттерне, и их со-

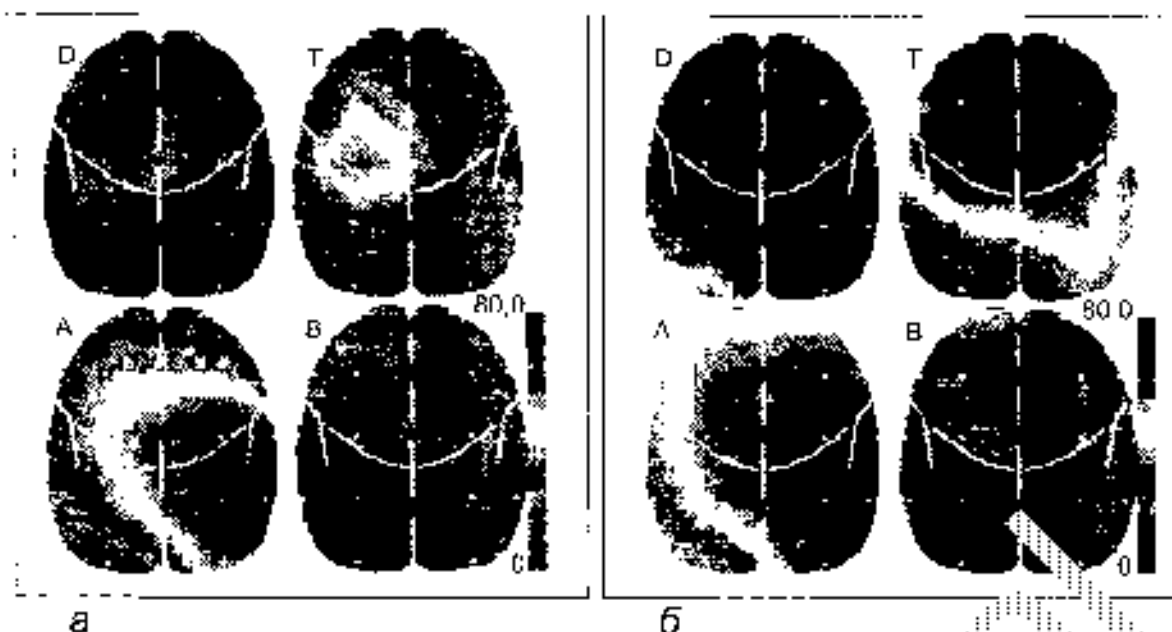


Рис. 15.20. Картограммы ЭЭГ больной С., 63 лет, в δ (D)-, θ (T)-, α (A)- и β (B)-диапазонах на фоне введения церебролизина.

а — первые 4 ч с момента развития ишемического инсульта в связи с тромбозом внутренней сонной артерии (до введения церебролизина); средний энергетический уровень частотного спектра (40—80 мкВ²/Гц); грубая МПА по α -1-диапазону; $S < 1$; раннее формирование очага медленной (δ -, θ -) активности в проекции ишемизированной области мозга; б — через 2 ч после введения 20 мл церебролизина: выразительное нарастание мощности всех частотных диапазонов, особенно медленных (δ -, θ -) ($S < 1$); «замедление» δ - и θ -активности в проекции очага ишемии; отсутствие тенденции к формированию паттерна ЭЭГ. Частотные диапазоны: δ = 1,4—3,9 Гц; θ = 4,0—6,9 Гц; α = 7,0—10,9 Гц; β = 12,0—24,0 Гц.

хрящение до 6-х суток инсульта структура медленных волн в проекции ишемии, межполушарная асимметрия по α -1-диапазону с преобладанием мощности в «интактном» полушарии.

Проведенные клинико-неврофизиологические сопоставления показали, что выбор адекватной дозы церебролизина в остром периоде каротидного ишемического инсульта определяет эффективность лечения и зависит не только от исходной тяжести состояния больного, но и от индивидуальных особенностей паттерна ЭЭГ. У большинства больных с инсультом средней тяжести, имеющих средний энергетический уровень спектра ЭЭГ (40—100 мкВ²/Гц), при любом прогностическом варианте паттерна ЭЭГ достаточной и эффективной была доза церебролизина 10 мл. Меньшие дозы (2—5 мл) оказывали «недостаточный» эффект, качественно не изменяя структуру частотно-мощностного паттерна спонтанной биоэлектрической активности мозга. Более высокие дозы (20 и 30 мл) не имели значимых преимуществ перед контролем и уступали в эффективности дозе 10 мл. При высоком энергетическом уровне спектра ЭЭГ (более 100 мкВ²/Гц), лабильном типе спектрограммы, наличии билатерально синхронной активности введение 20 и 30 мл препарата вызывало нежелательное диффузное увеличение мощности медленных частотных диапазонов с тенденцией к их замедлению в проекции очага ишемии. Эти изменения сохранялись до 6-х суток инсульта и соответствовали формированию стойкого очагового неврологического дефекта. Лишь при низком энергетическом уровне спектра ЭЭГ (менее 30 мкВ²/Гц) и стабильном типе спектрограммы с отсутствием

признаков ирритации срединно-стволовых образований мозга доза 20 мл приводила к более полной нормализации паттерна ЭЭГ, чем 10 мл, и была предпочтительнее.

При тяжелых формах инсульта у большинства больных, имевших средний и средненизкий энергетический уровень спектра ЭЭГ (20—100 мкВ²/Гц), наиболее адекватной была суточная доза церебролизина 20 мл; доза 10 мл оказалась «недостаточной»; увеличение дозы до 30 мл сопровождалось диффузным нарастанием мощности медленных диапазонов. При одномоментном введении 30 мл церебролизина уже на 5-й минуте мониторингирования отмечали перестройку ритмики ЭЭГ с выраженным замедлением доминирующей части спектра (ГОМК-подобное действие); через 60—90 мин диффузное увеличение мощности δ - и θ -активности сменялось ее отчетливой латерализацией в ишемизированное полушарие. К 6-м суткам инсульта в данных случаях регистрировали мощный фокус медленной активности в проекции очага ишемии, что сопровождалось значительным угнетением нормальных ритмов в ишемизированном полушарии. Клиническим аналогом являлось формирование стойкого очагового дефекта, резистентного к терапии. Лишь у тяжелобольных с исходно резко выраженным низковольтным ЭЭГ и низким энергетическим уровнем частотного спектра введение церебролизина в суточной дозе 30 мл было оправдано, вызывало более значимые положительные изменения биоэлектрической активности, чем 20 мл. Напротив, при исходно высоком энергетическом уровне спектра ЭЭГ и признаках билатеральной симметричной активности наиболее эффективной дозой препарата являлась доза 10 мл.

При статистическом сравнении усредненных картograms ЭЭГ, записанных на 1-е и 6-е сутки заболевания, у группы больных, получавших церебролизин в индивидуально подобранной адекватной дозе, выявлены достоверное снижение мощности медленных частотных диапазонов в ишемизированном полушарии ($p < 0,01$), а также увеличение мощности α -ритма в затылочно-центральных отведениях противоположенного полушария ($p < 0,001$), что сочеталось с хорошим клиническим восстановлением и ускоренным регрессом очаговых нарушений.

Результаты изучения влияния церебролизина на ССВП свидетельствовали о нормализации ритмов только при условии изначально (на момент госпитализации) относительно сохранной структуры вызванного ответа. При грубых нарушениях ССВП, сопровождавшихся выраженным снижением амплитуды или отсутствием компонентов, изменением латентностей основных пиков, введение препарата в исследованных дозах не приводило к нормализации вызванной активности.

Таким образом, проведенное клинко-нейрофизиологическое исследование подтвердило безопасность церебролизина; продемонстрировало благоприятное влияние препарата в суточной дозе 10—30 мл на течение острого периода ишемического инсульта при разной тяжести заболевания. Более значимо церебролизин улучшал восстановительные процессы и ускорял регресс очаговых неврологических симптомов у больных с исходным состоянием средней тяжести. Анализ летальности в целом по группам, без деления больных по тяжести состояния, выявил лишь тенденцию к ее снижению на фоне лечения церебролизинном (4 %, 2 из 50) по сравнению с контрольной группой (15 %, 9 из 60; $p < 0,1$). Однако в группе тяжелобольных снижение летальности было достоверным ($p = 0,05$). Сравнительное изучение эффективности разных доз препарата показало, что при отсутствии в клинике возможностей нейрофизиологического контроля оптимальной суточной дозой у больных с инсультом средней тяжести является

10 мл, с тяжелым — 20 мл. Однако наиболее точно индивидуальную адекватную дозу церебролизина можно определить с помощью исследования спонтанной биоэлектрической активности мозга.

Важно отметить, что проведенное исследование позволило сделать вывод о том, что высокие дозы церебролизина не всегда наиболее оптимальны и эффективны при остром ишемическом инсульте. Достаточно часто дозы церебролизина 20—30 мл не только не имели преимуществ перед меньшими дозами, но и оказывали ГОМК-подобное воздействие на функциональное состояние мозга, замедляли течение восстановительных процессов. Подобные эффекты препарата можно объяснить подавлением деятельности ретикулярной формации ствола мозга, заднего гипоталамуса, неспецифических ядер таламуса и хвостатого ядра с преобладанием восходящих влияний от переднего гипоталамуса на кору большого мозга. По-видимому, индивидуальная восприимчивость к высоким дозам церебролизина связана с индивидуальными особенностями обменных процессов в нервной ткани [13, 52].

Поиск новых эффективных препаратов с нейротрофическими и модуляторными свойствами сохраняет актуальность. В настоящее время ведутся исследования по созданию аналогичных церебролизину препаратов, являющихся гидролизатами белковых структур головного мозга, из которых активную фракцию которых составляют эндогенные пептиды-регуляторы. Препараты различаются по спектру входящих в них пептидов и особенностям метаболических эффектов. Одним из них является *течливенный церебролизин*.

Следует, однако, предостеречь об опасности получения биологического материала из мозга крупного рогатого скота в связи с возможностью инфицирования пациентов прионами (также известными) — переносчиками трансмиссивной энцефалопатии («болезнь скотского коров»), вызывающими у людей тяжелое нейродегенеративное поражение — болезнь Крейтцфельда—Якоба.

15.7. Ганглиозиды

Доказательство возможности эффективной коррекции отдаленных последствий ишемии головного мозга регуляторную сигнальную систему открывает перспективы для разработки новых нейропротективных терапевтических стратегий. Наряду с эндогенными регуляторами — переносчиками информации (нейропептидами) система внутриклеточной сигнальной трансдукции включает рецепторные структуры, которые также способны модулировать процессы нейронального повреждения и репарации. Рецептор-опосредованная генерация внутриклеточных вторичных мессенджеров является центральным событием в сигнальной цепи и приводит к дальнейшей модуляции активности протеинов (ферментов, ионных каналов, рецепторов). Значимость рецепторов в универсальном ответе ткани мозга на ишемию обуславливает интерес к изучению свойств их важных структурных компонентов — ганглиозидов.

Ганглиозиды относятся к группе гликофинголипидов, содержащих малоактивную гидрофобную (церамид и жирные кислоты) и метаболически высокоактивную гидрофильную (олигосахаридную) части [63, 186]. Олигосахаридный компонент ганглиозидов обеспечивает их большое разнообразие. Более 90 % всех ганглиозидов мозга представлены пятью типами: GM_1 , GDI_a , GDI_b , GTI_a и GTI_b . Наиболее высокое содержание ганглиозидов опре-

делено в коре большого мозга, мозжечке, хвостатом ядре [13, 100, 168, 210, 230]; в других тканях организма их содержание минимально.

Ганглиозиды являются маркерными липидами мембран нейронов и глияльных клеток, особенно в синаптических участках, одним из основных компонентов нейрональных рецепторов [186, 235]. Они влияют на конформацию как липидной, так и белковой фаз мембраны, вызывая увеличение жесткости поверхностного слоя, уменьшение числа полярных и увеличение гидрофобных групп, а также снижение способности окружающих молекул к переориентации [47, 64]. Динамические процессы, развивающиеся на поверхности мембран, их скорость и интенсивность влияют на проведение нервных импульсов, образование синаптических контактов, сортировку, передачу и хранение информации, а также на формирование памяти [63, 64].

Ганглиозиды обладают способностью к сильному взаимодействию с ионами кальция, позволяют поддерживать постоянную концентрацию свободного кальция у пресинаптической мембраны, обеспечивая функциональную активность нервной клетки даже при многократной и продолжительной стимуляции и участвуя в процессах ионного транспорта [38, 173, 184, 241]. Отмечены активирующее действие ганглиозидов на функционирование натрий-калиевой и магниевой АТФазы, чорклизомы также влияние на деятельность плазмённых и митохондриальных ферментов [179, 199].

Поверхностным маркером олигодендроглии и миелина является ганглиозид GM_4 , а ганглиозиды GD_1b и GT_1b — специфическими антигенами плазматических мембран нейронов [74, 239]. Установлено, что ганглиозиды способны связывать серотонин и оказывают влияние на дофаминергическую трансмиссию [117, 234]. Специфические рецепторы на поверхности холинэргических нервных окончаний также имеют ганглиозидную природу. По мнению Н.Ф. Авровой [1], ганглиозиды принимают участие в узнавании поверхности нейронов, специфически по типу вырабатываемого медиатора.

Являясь частью рецепторных комплексов, ганглиозиды участвуют в иммунном ответе как антигены для компетентных клеток и клеток-мишеней, т.е. являются специфическими маркерами указанных клеток [89, 231]. Они могут осуществлять передачу информации между разными типами иммунокомпетентных клеток, служить модуляторами иммунного ответа [54, 151]. Установлено, что ганглиозид GD_1b оказывает сильное трофическое действие, аналогичное действию фактора роста нервов [148].

Рецепторная функция ганглиозидов подтверждается также взаимодействием их с гормонами, в частности гонадотропином и тиреостимулирующим гормоном [119]. Обоснованно также предположение, что ганглиозиды находятся в тесном взаимодействии с нейропептидами. По данным J.M. Polak, S.R. Moot [201], оказывая воздействие на нейропептиды как с возбуждающими (субстанция P, вазоактивный интестинальный пептид, ангиотензин), так и тормозными (В-эндорфин, люлиберин, соматостатин) эффектами, ганглиозиды в какой-то степени участвуют в реализации конечного функционального эффекта нейропептидов.

Суммируя данные о полифункциональном назначении ганглиозидов, можно сделать заключение, что они являются опознающими молекулами мембран, вносят вклад в модификацию мембранной поверхности, образуют аннионный слой с выраженным сродством к катионам. Основными молекулярными функциями ганглиозидов являются клеточное узнавание и межклеточные взаимодействия; рецепция нейрональных мембран (взаимодействие с нейромедиаторами, гормонами, антигенами, токсинами, катиона-

ми); регуляция ионного микроокружения и мембранного электрогенеза. Таким образом, ганглиозиды имеют отношение ко всем основным функциям нейрона: проведению нервного импульса, медиации, синаптогенезу [157, 158, 211]. Важно отметить, что экзогенные ганглиозиды, особенно GM_1 , при введении в организм могут включаться в структуру нейрональных мембран и вызывать динамические перестройки в эндогенных ганглиозидах [91].

Учитывая важность регуляторных функций ганглиозидов, их участие в модуляции наиболее значимых молекулярных и клеточных процессов нервной ткани, представляло особый интерес изучение возможности их нейропротективного влияния на мозг в условиях ишемии.

Первые экспериментальные исследования ганглиозидов при церебральной ишемии были связаны с оценкой их влияния на темпы и выраженность репаративных процессов. Установлено, что моносialogанглиозид GM_1 значительно ускоряет восстановление активности поврежденных дофаминергических и холинергических нейронов [235, 249]; способствует быстрому функциональному восстановлению экспериментальных животных при введении его спустя 10–15 дней после очагового ишемического повреждения мозга [84, 214]. Однако модулирующие влияния ганглиозидов на кальциевый метаболизм и деятельность ионных каналов, а также выявленная их способность ограничивать «эксайтотоксическую» активность возбуждающих аминокислотергических нейротрансмиттеров (глутамата и аспартата) без одновременного угнетения физиологической активности их рецепторов [98, 181] позволяли предположить наличие у ганглиозидов потенциальных нейропротективных свойств.

Обнаружено, что при введении GM_1 через 10 мин после индукции острой фокальной ишемии мозга значительно ускоряется нормализация метаболизма кислорода и глюкозы [240]. Другим путем лечения животных с экспериментальным ишемическим инсультом, производными GM_1 , сопровождалось достоверным уменьшением зоны инфаркта и других изменений [216].

В первые клинические испытания [30, 81] были включены 78 пациентов с острым ишемическим инсультом, получавших GM_1 (внутримышечно в суточной дозе 40 мг) или плацебо на фоне использования кортикостероидов с целью уменьшения выраженности отека мозга. Продemonстрированы отсутствие побочных эффектов ганглиозида и его статистически значимое благоприятное действие на клинический исход заболевания и показатели функциональной активности мозга (ЭЭГ и зрительные вызванные потенциалы). Результаты первых исследований инициировали серию новых рандомизированных плацебо-контролируемых клинических испытаний (всего за период с 1984 по 1994 г. — 14, включавших около 1500 пациентов), в которых применяли более высокую суточную дозу GM_1 — 100 мг (внутримышечно или внутривенно), а также начинали лечение в более ранний период (между 5-м и 72-м ч с момента развития инсульта). Наиболее широкое и обоснованное мультицентровое исследование включало 502 больных с первым в жизни полушарным ишемическим инсультом, рандомизированных в 31-м клиническом центре внутри 12-часового интервала с момента развития заболевания [76]. Больные получали GM_1 (внутривенно в дозе 100 мг) или плацебо в течение 15 дней. Половине пациентов каждой группы также проводили гемодилюцию. Эффективность лечения оценивали через 15, 21 и 120 дней по показателю летальности, функциональному восстановлению (шкала Рэнкина [208]) и регрессу неврологических симптомов (Канадская неврологическая шкала; CNS [99]). Степень восстановления неврологических функций на 15-й день заболевания у больных, леченных GM_1 , была

значительно выше, чем в группе плацебо; достоверное влияние ганглиозида на выраженность неврологического улучшения отмечали в течение первых 10 дней лечения. В то же время с 21-го по 120-й день наблюдения положительного эффекта от лечения GM_1 не выявлено. Клинический исход у больных, лечение которых начинали в первые 6 ч заболевания, не отличался от такового у больных с поздним началом терапии. Начальные положительные эффекты препарата позволили авторам рекомендовать продолжение испытаний. Несколько меньших по объему клинических исследований продемонстрировали вариабельность положительных эффектов GM_1 , однако без статистического подтверждения их достоверности [75, 118, 149, 188, 244]. Проведенные мультицентровые исследования *SASS (the Sygen Acute Stroke Study)* [72] и *EST (Early Stroke Trial)* [172] также не подтвердили высокой эффективности GM_1 при лечении острого ишемического инсульта. Показатели летальности в группах с применением ганглиозида и плацебо не имели достоверных различий; положительное влияние препарата на регресс очевидных симптомов было зарегистрировано лишь в виде тенденции ($p=0,06$). Вместе с тем при *post-hoc* групповом анализе установлено статистически значимое улучшение неврологического восстановления у больных, получавших ганглиозид, начиная с первых 4 ч заболевания ($p=0,016$ по сравнению с группой «плацебо»).

Наряду с изучением свойств моносинвоганглиозида GM_1 были предприняты попытки создать более эффективные препараты, основанные на комбинации нескольких эндогенных ганглиозидов. Одним из таких препаратов является **кронассиал (cronassial)**, состоящий из ганглиозидов 4 групп: GM_1 (21 %), GD_1a (40 %), GD_1b (16 %), GT_1b (19 %), в наибольшем количестве содержащихся в ткани мозга.

15.7.1. Клинико-нейрофизиологическое изучение эффектов кронассиала при ишемическом инсульте

Целью исследования являлось изучение безопасности и эффективности кронассиала в остром периоде ишемического инсульта.

Проведено исследование 20 больных (15 мужчин и 10 женщин; средний возраст $57,5 \pm 9,7$ года) в остром периоде ишемического инсульта в системе внутренней сонной артерии (у 15 — левой, у 10 — правой), поступивших в неврологическую клинику Российского государственного медицинского университета в первые 12 ч после развития заболевания [17]. Исследование проводили по согласованию с Этическим комитетом университета после получения устного или письменного согласия больных или их представителей. Критерии «включения» и «исключения» были аналогичны использованному при проведении испытаний других нейропротекторов (см. главы 14 и 15).

Препарат назначали с момента поступления в клинику внутривенно капельно в дозе 100 мг в 1-е, на 3-и и 5-е сутки заболевания. «Фоновая» терапия была стандартизована и включала гемодилюцию, низкие дозы гепарина (при необходимости), аспирин и осмотические диуретики (при необходимости). Другие препараты с потенциальным нейропротективным действием в лечении не использовали. Контрольную группу составили 60 больных, получавших лишь «фоновую» терапию без включения нейропротекторов (см. раздел 15.6.3.1).

Методы клинической оценки состояния больных, дизайн исследования и статистическая обработка были идентичны использованным при испыта-

нии церебролизина. На момент госпитализации состояние 15 (60 %) больных, получавших кронассинал, было оценено как средней тяжести, у 10 (40 %) — как тяжелое. В качестве основных «конечных точек» исследования были выбраны безопасность препарата, степень регресса неврологического дефицита по оригинальной шкале, степень функционального восстановления по индексу Бартела и 30-дневная летальность.

Для изучения влияния кронассиала на функциональное состояние головного мозга было проведено комплексное нейрофизиологическое мониторирование, включавшее исследование спонтанной биоэлектрической активности мозга с помощью ЭЭГ с частотно-спектральным анализом и ТСК ЭЭГ, определение показателей центрального и периферического проведения по эфферентным и афферентным системам с помощью исследования коротколатентных ССВП, чрескожной транскраниальной кортикальной электростимуляции и электроэнцефалографии [37]. Комплекс исследований осуществляли при поступлении больного в клинику, на фоне первого применения препарата, в последующие 4 ч, а также повторно на 6-е (по окончании курса лечения кронассиалом) и 21-е (по окончании 6-го периода) сутки инсульта. Описание методов приведено в разделе 1.5.

При изучении спектра клинических влияний кронассиала на выявлено его значимых побочных эффектов, аллергических реакций, не было зарегистрировано действия препарата на системное АД, частоту сердечных сокращений, ЭКГ, клинические и биохимические анализы крови и мочи. Кронассинал хорошо переносили все обследованные больные.

Анализ динамики клинических проявлений инсульта показал благоприятное влияние кронассиала на регресс очаговых неврологических симптомов у больных с исходным состоянием средней тяжести: к 6-м и 30-м суткам заболевания у них отмечалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение прироста суммарного клинического балла (по оригинальной неврологической шкале) [17] по сравнению с данным показателем в контрольной группе (рис. 15.21). Как и при действии других нейропротекторов, эффективность кронассиала была несколько выше при полушарной локализации ишемии. Установлено достоверное ускорение регресса двигательных ($p < 0,05$), чувствительных ($p < 0,01$) и вегетативных ($p < 0,01$) нарушений. К 30-м суткам инсульта у 86,7 % (13 из 15) больных, находившихся в состоянии средней тяжести, наблюдали хорошее восстановление неврологических функций по индексу Бартела (в контрольной группе — у 63,3 %).

При тяжелых формах инсульта кронассинал не оказывал влияния на общее состояние больных, выраженность нарушений сознания и других общемозговых симптомов, а также на летальность ($p > 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Лишь в тех случаях, когда тяжелое состояние больных было обусловлено значительной выраженностью очагового дефекта, препарат оказывал отчетливое положительное действие, которое проявлялось ускоренным восстановлением нарушенных неврологических функций в непосредственной временной связи с его введением. При прогрессирующем развитии инсульта, обусловленном нарастанием тромботического процесса, кронассинал «обрывал» увеличение выраженности парезов и приводил к их регрессу. Однако статистический анализ, проведенный в целом по группе тяжелобольных, не подтвердил эффективности препарата (см. рис. 15.21).

Действие кронассиала на спонтанную биоэлектрическую активность мозга проявлялось через 7–10 мин после его введения билатеральным увеличением мощности частотного спектра ЭЭГ (преимущественно за счет быстрых частотных диапазонов) главным образом на стороне ишемии.

Δ Суммарного
клинического
балла
10 —

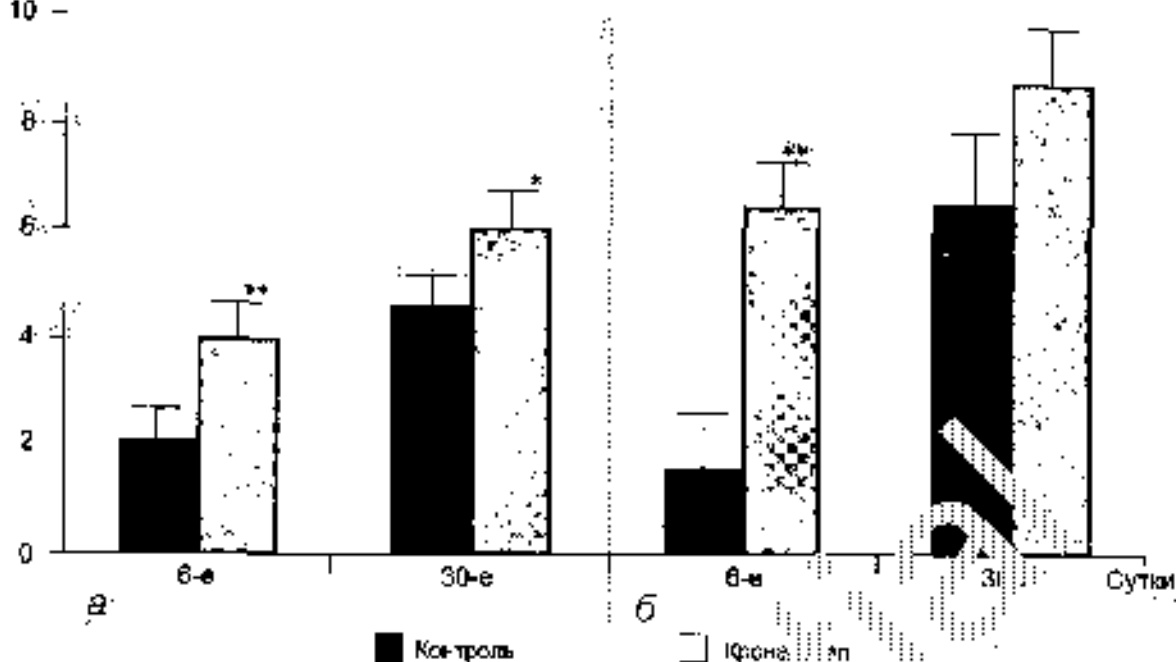


Рис. 15.21. Динамика суммарного клинического балла на 1-е и 30-е сутки после развития каротидного ишемического инсульта на фоне лечения кронассиалом.

а — инсульт средней тяжести; б — тяжелый инсульт. Динамическая оценка различий по сравнению с контролем: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

Через 20–30 мин на смену фазы «ирригации» приходило билатеральное снижение общего энергетического уровня электроа (равномерно по всем частотным диапазонам) ниже исходного (на момент поступления в клинику) уровня. Только через 40–60 мин после введения препарата энергетическая мощность электроа нарастала, что сопровождалось тенденцией к нормализации паттерна ЭЭГ. Основной электроэнцефалографической характеристикой действия кронассиала являлось его направленное влияние на фокальные изменения биоэлектрической активности, регресс которых был отмечен в случаях отсутствия выраженной диффузной медленной активности («тихой» записи ЭЭГ (рис. 15.22). При статистическом сопоставлении усредненных картограмм ЭЭГ на 1-е и 6-е сутки после развития инсульта выявлены достоверные различия лишь в группе больных, находящихся в состоянии средней тяжести: снижение мощности δ - и θ -диапазонов в ишемизированном полушарии ($p < 0,05$), увеличение мощности α -1-активности в затылочных отведениях ($p < 0,05$). У тяжелобольных достоверной положительной динамики усредненных паттернов ЭЭГ определено не было ($p > 0,05$).

Результаты изучения функционального состояния центральных эфферентных и афферентных проводящих систем мозга подтвердили благоприятное действие кронассиала на регресс двигательных и чувствительных нарушений. Установлена достоверная нормализация времени центрального эфферентного и афферентного проведения на стороне острой фокальной ишемии мозга как непосредственно после первого введения препарата, так и на 6-е сутки забывания ($p < 0,05$), что отражало значительное улучшение

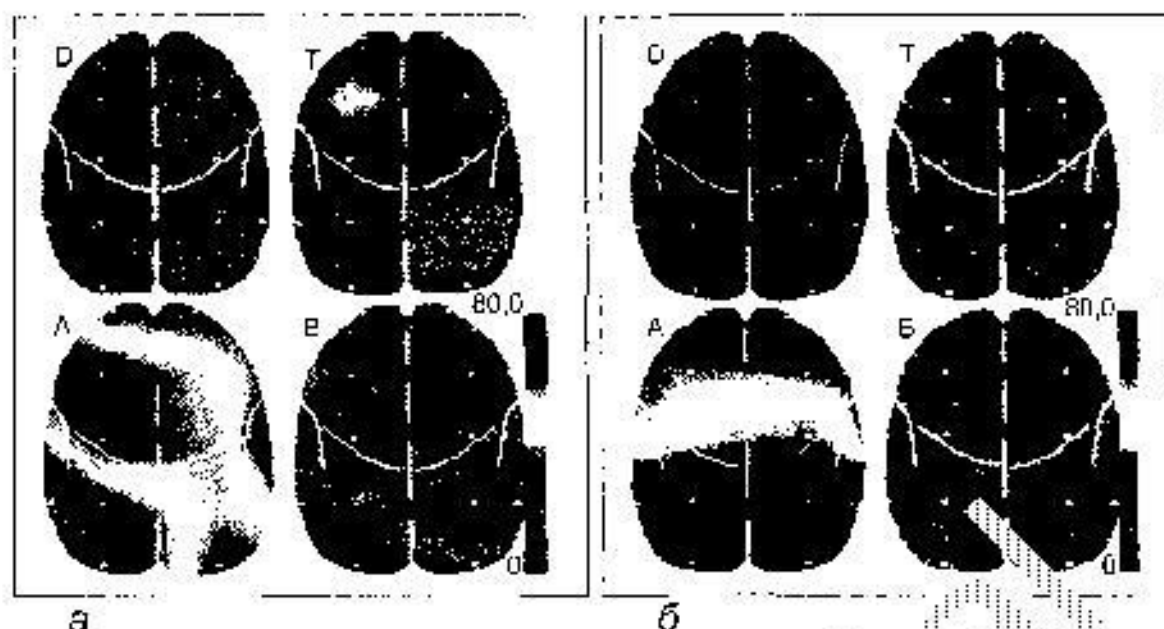


Рис. 15.22. Картограммы ЭЭГ больного О., 56 лет, в до- (D), центральных (T), передних (A) и боковых (B) диапазонах.

а — первые 4 ч после развития ишемического инсульта (до введения кронассина), средний энергетический уровень частотного спектра ЭЭГ (40–80 мкВ²/Гц), МПА по 1-м диапазонам у больных с ишемическим инсультом в центральных отделах, $S < 0$, раннее формирование α - θ -очага (6–10 Гц) в ишемизированной области мозга; б — на 6-е сутки: нормализация паттерна ЭЭГ, голым росчерком очаговых изменений биоэлектрической активности и нормализация ее ритмического распределения доминирующего α -ритма. Частотные диапазоны: δ = 1,4–4 Гц; θ = 4,0–6,9 Гц; α = 7,0–11,9 Гц; β = 12,0–31,0 Гц.

прогноза восстановления функций. Ускорение центрального проведения в большей степени было выражено в группе тяжелобольных при исходно наиболее высоких значениях ВЦЭП и ВЦАП.

Электроэнцефалографическое исследование выявило позитивное влияние кронассина на функциональное состояние сегментарно-периферического нейромоторного аппарата: к концу острого периода инсульта наблюдалась достоверная нормализация скоростей проведения импульса по двигательным и чувствительным волокнам периферических нервов ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Таким образом, результаты клинко-нейрофизиологического исследования в целом соответствовали данным, полученным при испытаниях других ганглиоблокаторов в остром периоде ишемического инсульта. Показаны безвредность комбинированного ганглиоблокирующего препарата кронассина и хорошая переносимость его обследованными больными. Установлено преимущественное влияние препарата на выраженность очагового неврологического дефекта. В связи с этим только у больных, находившихся в состоянии средней тяжести, при субгрупповом анализе выявлена его достоверная эффективность ($p < 0,05$). В то же время оценка эффективности кронассина в целом по группе или отдельно у тяжелобольных не подтвердила его благоприятного влияния на летальность и темпы восстановительной динамики. Нейрофизиологическое исследование позволило объективизировать направленное действие препарата на репаративные процессы в очаге повреждения мозга.

15.8. Предотвращение апоптоза

Исследования, проведенные в течение последнего десятилетия, доказали участие генетически детерминированной программы смерти клеток в «доформировании» инфаркта мозга. Механизмы апоптоза (см. главу 10) «включаются» позже быстрых реакций некротического повреждения клеток, достигая максимума активности на 2—3-и сутки после развития инсульта, и реализуют свое действие преимущественно в зоне «ишемической полутени». Интенсивность апоптоза определяется многими факторами, из которых наиболее значимыми являются тяжесть ишемии, уровень трофического обеспечения и концентрация внутриклеточных ионов Ca^{2+} [170]. По мнению Т. Koike, S. Tanaka [163], J.M. Lee с соавт. [170], установление контроля за процессами апоптоза является одной из важнейших стратегических задач нейропротекции. В экспериментах показано, что все препараты — первичные нейропротекторы, действие которых направлено на прерывание глутамат-кальциевого каскада и уменьшение выраженности некроза, снижают уровень внутриклеточных ионов Ca^{2+} , т.е. параллельно с основным антинекротическим эффектом индуцируют апоптоз. Торможение же апоптоза лишь усиливает действие первичных нейропротекторов.

В настоящее время начата разработка методов активной клеточной защиты. Установлено тормозящее влияние на апоптоз ингибиторов белкового синтеза [112]. Так, введение экспериментальным животным циклогексамида (*cycloheximide*) каждые 30 мин в течение 24 ч после индуцированной острой фокальной ишемии мозга позволяло уменьшать размеры инфаркта, на 70 %, снижая новообразование белков [171]. На основании достижений современных молекулярно-генетических исследований проводится лабораторный синтез стабильных аналогов эндогенных нейротрофинов методами рекомбинации ДНК, молекулярных эффектов, «выключающих» механизмы «программированной» клеточной смерти; создаются генетически модифицированные клетки, непосредственно секретирующие нейротрофические факторы, которые используются для трансплантации в пораженную зону мозга. Безусловно, результаты этого начального поиска представляют огромный интерес и определяют терапевтические стратегии будущего. Вместе с тем уже сегодня в клиническую практику внедряют вторичные нейропротекторы (нейротрофические факторы, противовоспалительные цитокины, нейропептиды), которые улучшают трофическое обеспечение мозга, влияют на триггерные механизмы основных отдаленных последствий ишемии и, возможно, наряду с известными эффектами оказывают воздействие на механизмы апоптоза.

Литература

1. Аврора Н.Ф. Укр биохим журн 1984; 56 (3): 245—253.
2. Акрас А. Церебролизин: общие сведения. — В кн.: 3-й международный симпозиум по церебролизину. — М., 1991; 5.
3. Алексидзе Н.Г., Балавадзе М.В., Пономарева-Стелная М.А. и др. Бюл эксперим биол и мед 1983; 96 (7): 24.
4. Арефьева И.А. Изучение действия аналога АКТГ и тафетина на клетки нервной системы млекопитающих. Дисс. канд биол. наук. — М., 1992.
5. Ашмарин И.П., Стукалов П.В. Нейрохимия. — М.: Изд-во Инст Биомед Химии РАН, 1996.

6. Ашмарин И.П., Каменский А.А., Шелехов С.Л. Докл. АН СССР, 1978; 240 (5): 1245.
7. Ашмарин И.П., Незавибатко В.Н., Мясоедов Н.Ф. и др. Журн высшей нервной деятельности 1997; 47 (2): 420—430.
8. Буракова Е.Ю., Кайранс Ч.В., Молочкина Е.М. и др. Вопр мед химии 1984; 1: 66—72.
9. Виленский Б.С. Инсульт: профилактика, диагностика и лечение. — СПб., 1999; 336.
10. Виндшиш М. Церебролизин — последние результаты в оценке мультимодального действия препарата. — В кн.: 3-й Международный симпозиум по церебролизину. — М., 1991; 81—86.
11. Волков А.В., Заржецкий Ю.В., Постнов А.Ю. и др. Результаты применения регуляторных пептидов при реанимации после остановки сердца в эксперименте. — В кн.: Терминальные состояния и постреанимационная патология организма: патофизиология, клиника, профилактика и лечение. — М.: Ин-т общей реаниматологии РАМН, 1992; 69—76.
12. Вязов О.Е. Вестн АМН СССР 1973; 6: 32—38.
13. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синapses. — М.: Медицина, 1978.
14. Громова О.А., Авдеев Т.В., Бурцев Е.М. Журн неврол и психиатр 1978; 78: 36—37.
15. Гурленя А.М., Таланин В.И. Фармакотерапия заболеваний нервной системы. — Минск: Высшая школа, 1978; 288.
16. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга: Актуальные вопросы. — М., 1992.
17. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Карта обследования и лечения больных с ишемическим инсультом. — М., 1990.
18. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Скворцова В.И. Вестник практической неврологии 1995; 1: 8—14.
19. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Скворцова В.И. Вестник РГМУ 1995; 1 (1): 2128.
20. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Скворцова В.И., Гехт Г.И. Система метаболической терапии больных ишемическим инсультом. — В кн.: Современные методы диагностики и лечения заболеваний нервной системы. — Уфа, 1996; 107—118.
21. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Жигалова Е.Ю., Ковалева Е.В. Международный мед журн 1999; 5 (1): 45—51.
22. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Скворцова В.И. и др. Журн неврол и психиатр 1994; 1: 9—13.
23. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Гусев К.С. и др. Определение содержания нейротрансмиттерных аминокислот в ликворе у больных с острым ишемическим инсультом. — В кн.: Функциональные исследования как основа создания лекарственных средств. — М., 1995; 133—134.
24. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Мясоедов Н.Ф. и др. Журн неврол и психиатр 1997; 6: 26—33.
25. Гуськова А. Опыт применения антиоксиданта эмоксипина в неврологии. В кн.: Интенсивная терапия острых нарушений мозгового кровообращения. — Орел, 1997; 257—262.
26. Десяткина Т.А., Ловаленко Э.Г., Смирнов Л.Д. Эксп и клин фармакология 1993; 56 (1): 33—35.
27. Достойнова Т.В. Эффективность церебролизина при ишемическом инсульте. — В кн.: Актуальные вопросы клинической ангионеврологии. — СПб., 1997; 21—22.
28. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Вальдман А.В. Вестник АМН СССР 1984; 1: 3—7.
29. Ерахин О.Ю. Мониторный контроль изменений электрической активности и энергетического метаболизма мозга в остром периоде церебрального инсульта: Автореф. дисс. канд. мед. наук. — М., 1984.
30. Журавлева Е.Ю. Роль пептидургических нейротрансмиттерных систем в патогенезе и нейропротективной терапии острого ишемического инсульта (клинико-биохимическое исследование): Дисс. канд. мед. наук. — М., 1998; 191.

31. Завалишин И.А., Ниязбеков А.С. — В кн.: Теоретические и клинические основы лечения церебральным: Материалы 2-го симпозиума. — М., 1975.
32. Казан В.Е., Иванова С.Б., Мурзахметова М.К. и др. Бюлл эксп биол и мед 1986; 102 (11): 552—554.
33. Каплан А.Я., Камелев В.Б., Незавибатько В.Н., Ашмарин И.П. Физиология человека 1992; 18 (5): 104—107.
34. Каплан А.Я., Каменский А.А., Ашмарин И.П. и др. Антиишемические свойства нейропептида ссмакс: электроэнцефалографический анализ. — В кн.: Применение малых регуляторных пептидов в анестезиологии и интенсивной терапии. — М., 1991; 78—87.
35. Катункина Е.А. Клинико-электрофизиологическое мониторирование функционального состояния мозга и метаболическая терапия в остром периоде ишемического вертебрально-базиллярного инсульта: Дисс. канд мед. наук. — М., 1997.
36. Ковалев Г.В. Фармакология и клиническое применение нейроактивных аминокислот и их аналогов. — В кн.: Труды Волгоградского мед института. — Волгоград, 1985; 37 (5): 295.
37. Коваленко А.В. Функциональное состояние эфферентной и афферентной проводящих систем головного мозга в остром периоде ишемического инсульта на фоне приема метаболически активных препаратов: Дисс. канд мед. наук. — М., 1992.
38. Крекс Е.М. Липиды клеточных мембран. — Л.: Наука, 1981; 374.
39. Крыжановский Г.Н., Луценко В.К. Успехи совр биот 1992; 115 (1): 31—49.
40. Кузнецов Д.А., Жердев В.П., Кузнецова Т.Д. Архив гистохим. 1981; 59 (5): 379—381.
41. Лебедева Н.В. Опыт применения церебрального у больных острым нарушением мозгового кровообращения. — В кн.: Труды МИИ. — М., 1975; 48 (2): 80—85.
42. Лукьянова Л.Д. Бюлл эксп биол и мед 1993; 115 (1): 259—260.
43. Лукьянова Л.Д., Романова В.Е., Чернобаев Л.П. и др. Хим-фарм журнал 1990; 24 (8): 9—11.
44. Маркова Е.Д., Иванова-Смоленская М.А. и др. — В кн.: Теоретические и клинические основы лечения церебральным: Материалы 2-го симпозиума. — М., 1975.
45. Меерсон Ф.З., Сатыкова Г.А., Диченко В. и др. Кардиология 1984; 24 (5): 61—68.
46. Меррил Т.А., Семенченко Л.А., Чернова Л.Д. Бюлл эксп биол и мед 1994; 117 (2): 212—213.
47. Мирзоян С.А., Секоян Э.С., Социал О.П. Бюлл эксп биол и мед 1984; 97 (6): 681—683.
48. Муранов К.О., Платинский Н.Б., Шведова А.А. и др. Бюлл эксп биол и мед 1986; 102 (10): 432—434.
49. Мясоедов Н.Ф., Скворцова В.И., Насонов Е.Л. и др. Журн неврол и психиатр 1999; 5: 15—19.
50. Паджаев Л.Р. Онтогенез 1973; 4 (2): 145—153.
51. Пономарева-Стелная М.А., Алфеева Л.Ю., Максимова Л.А. и др. Хим-фарм журн 1981; 1: 37—42.
52. Пономарева-Стелная М.А., Порункевич Е.А., Скуныш А.А. и др. Бюлл эксп биол и мед 1984; 51: 82.
53. Пономарева-Стелная М.А., Алфеева Л.Ю., Максимова Л.А. и др. Реабилитация работоспособности персонала энергопредприятий. В каталоге тематической выставки «Охрана труда в энергетике» СПО ОРГРЭС. — М., 1996; 83.
54. Силищина Е.В., Лименовская А.Ф., Ключарева Т.Е. и др. Влияние ганглиозидов на цитотоксическую активность естественных киллеров сирийских хомяков. — В кн.: Тезисы докладов 5-го Всесоюз биохим съезда. — М.: Наука, 1985; 3: 132—133.
55. Скворцова В.И. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1993.

56. Скорцова В.И. Новости медицины и фармации 1994; 4: 26—31.
57. Скорцова В.И. Междунар журн мед практики 2000; 4: 33—35.
58. Скорцова В.И., Фидлер С.М. Клинико-электрофизиологические исследования влияния церебролизина на функциональное состояние мозга в остром периоде полушарного ишемического инсульта. — В кн.: Сосудистые заболевания нервной системы. — М., 1983; 61—68.
59. Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. Хим-фарм журнал 1982; 4: 28—44.
60. Смирнов Л.Д., Малюкина Л.С., Лазаревич В.Г., Федоров Т.А. Бюлл экп биол и мед 1983; 96 (9): 40—42.
61. Столярова Л.Г., Кадыков А.С., Кистенев Б.А. и др. Эффективность церебролизина при лечении больных с остаточными проявлениями после нарушения мозгового кровообращения. — В кн.: Теоретические и клинические основы лечения церебролизинем: Материалы 2-го симпозиума. — М., 1975; 22—26.
62. Таликеева У.М., Воронина Т.А., Кузьмин В.И. и др. Фармакол и токсикол 1987; 1: 74—77.
63. Туманова С.Ю. Полифункциональная роль ганглиозидов клеточной поверхности. — В кн.: Тезисы докладов 5-го Всесоюзного биохимического съезда. — М.: Наука, 1985; 1: 225.
64. Туманова С.Ю., Прахорова М.И. Нейрохимия 1982; 1 (2): 184—189.
65. Фидлер С.М. Клинико-нейрофизиологическое изучение функционального состояния головного мозга в остром периоде полушарного ишемического инсульта: Дисс. канд. мед. наук. — М., 1993.
66. Фишер М., Шейн В. Обзор подходов к терапии острого инсульта: прошлое, настоящее и будущее. Журн неврол и психиатр (Инсульт) 2000; 1: 21—33.
67. Хебенштайт Г.Ф. Эффективность аминокислотного оптического соединения при церебральной дисфункции со специальной ссылкой на геронтопсихиатрию. — В кн.: Матер. Междунар. Симпозиум по применению препарата церебролизин. — М., 1991; 16—20.
68. Чернобаева Г.Н. В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. — М., 1989; 11—14.
69. Шишкина М.В., Хохлова Т.Ю., Шмыг В.Л., Стеснилов Г.Е. Применение эноксигина и эйкозола для коррекции перекисидемии и процессов перекисного окисления липидов у больных с острым ишемическим инсультом. — В кн.: Интенсивная терапия острых нарушений мозгового кровообращения. — Орел, 1997; 53—58.
70. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Милушев К. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. — М., 1965.
71. Яковлева Е.В., Кузнецов С., Федоров В.Н. и др. Бюлл экп биол и мед 1999; 128 (8): 172—174.
72. Alter M.S. For the Stroke Investigators. Stroke 1994; 25: 1141—1148.
73. Ames A., Wright L., Lowrie M. et al. Am J Pathol 1968; 52: 437—453.
74. Ando S., Chang N.C., Yu J.K. Anal Biochem 1978; 89: 437—441.
75. Angelini C., Scarpini C., Martinazzo C. et al. Cerebrovasc Dis 1992; 2: 163—168.
76. Argentin C., Sacchetti M.L., Toni D. et al. Stroke 1989; 20: 1143—1149.
77. Ashmarin P., Kuzensky A.A., Myasoedov N.F., Skvortsova V.I. Regulatory Peptides 2000; 89: 5.
78. Banati R.B., Granber M.B. Dev Neurosci 1994; 16: 114—127.
79. Barone F.C., Arvin B., White R.F. et al. Stroke 1997; 28: 1233—1244.
80. Bassi S., Albizzati M.G., Sbacchi M. et al. J Neurosci Res 1984; 12: 493—498.
81. Battistin L., Cesari A., Galligioni F. et al. Eur Neurol 1985; 24: 343—351.
82. Betz A.L., Yang G.Y., Davidson B.L. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15: 547—551.
83. Birkmayer W. Neural Med 1953; 2: 100.
84. Bjorklund A., Stenevi U. Physiol Rev 1979; 59: 62—100.
85. Boado R.J. Neurosci Lett 1998; 255(3): 147—150.
86. Boado R.J., Wu D., Windisch M. Neurosci Res 1999; 34 (4): 217—224.
87. Bowes M.P., Zivin J.A., Rothlein R. Exp Neurol 1993; 119: 215—219.
88. Brenneman D.E., Schultzberg M., Bartfai T., Oates I. J Neurochem 1992; 58: 454—460.
89. Cahan L.D. Proc Nat Acad Sci 1982; 79 (24): 7629—7633.

90. Cao X., Phillips J.W. *Brain Res* 1994; 644: 267–272.
91. Carolei A., Freschi C., Bruno R., Taffano G. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1991; 3: 134–157.
92. Cerebrolysin for the treatment of dementia, stroke and brain injuries. EBEWE Pharmaceuticals. Unterach, Austria 1995; 24–31.
93. Chen C.C., Manning A.M. *Cytokine* 1996; 8 (1): 58–65.
94. Chen H., Chopp M., Zhang R.L. et al. *Ann Neurol* 1994; 35: 458–463.
95. Chen L., Haught W.H., Yang B. et al. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 569–575.
96. Chopp M., Zhang R.L., Chen H. et al. *Stroke* 1994; 25: 869–876.
97. Cockcroft K.M., Meistrell M., Zimmerman G.A. et al. *Stroke* 1996; 27: 1393–1398.
98. Collingridge G.L., Bliss T.V. *Trends Neurosci* 1987; 10: 288–293.
99. Cote R., Hachinski V.C., Shurvell B.L. et al. *Stroke* 1986; 17: 731–737.
100. Dal Toso R., Skaper S.D., Ferrari G. et al. Ganglioside involvement in membrane-mediated transfer of trophic information: relationship to GM1 effects following CNS injury. In: *Pharmacological Approaches to the Treatment of Brain and Spinal Cord Injury* (Stein D.G., Sabel B.A. eds.). New York, Plenum Press 1988; 143–165.
101. Dag K.J.E. *Eur J Pharmacol* 1992; 219: 153–158.
102. Dawson D.A., Martin D., Hallenbeck J.M. *Neurosci Lett* 1996; 218: 41–44.
103. Dawson D.A., Masayasu H., Graham D.I. et al. *Neurosci Lett* 1996; 205: 57–60.
104. Devuyt G., Bogousslavsky J. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1998; 67: 417–427.
105. Ding A., Nathan C.F., Graycar J. et al. *J Immunol* 1990; 145: 943–944.
106. Dolotov O.V., Grivennikov I.A. Application of primary culture of cortical neurons to the study of neurotrophic action of peptides. In: *15th ECTN Meeting, Tours 1997*.
107. Dustin M.L., Rothlein R., Bhan A.K. et al. *J Immunol* 1986; 137: 245–254.
108. Endres M., Laufs U., Huang Z. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8880–8885.
109. Enlimomab Acute Stroke Trial Study Group. *Neurology* 1997; 48: A270.
110. Escott K.J., Beech J.S., Haga K.K. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18: 281–287.
111. FIBLAST Safety Study Group. *Stroke* 1998; 29: 87.
112. Fisher M. *Eur Neurol* 1995; 35: 3–7.
113. Fisher M., Bogousslavsky J. *JAMA* 1996; 279: 1298–1303.
114. Fisher M., Meadows M.E., De T. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 953–959.
115. Garcia J.H., Liu K.-F., Bro M.S. *Ann Neurol* 1996; 40: 241–248.
116. Garcia J.H., Liu K.F., Yoshida Y. et al. *J Pathol* 1994; 175: 721–740.
117. Gielen W. *Z Nature* 1968; 220: 1007–1008.
118. Giraldi C., Masi M.C., Mignani M. et al. *Acta Neurol Nap* 1990; 12: 214–221.
119. Goldberg M.P. *Stroke Trials Database*, Internet Stroke Center at Washington University (cited 5 April 1998). (<http://www.neuro.wustl.edu/stroke>) (1997).
120. Gothe M. *ZFA* 1977; 50: 178.
121. Gozes I. et al. *J Neurochem* 1999; 72: 1283.
122. Gozes I., Melamed S., Pinesov A. et al. *Regulatory Peptides* 2000; 89 (1–3): 62.
123. Granger C.V., Hamrick B.R., Gresham G.E. et al. *Arch Phys Med Rehabil* 1989; 70: 100–103.
124. Grivennikov I.A., Dolotov O.V., Myasoedov N.F. et al. Effects of a new behaviorally active ACTH analogue, Semax on cholinergic basal forebrain neurons. Society of neuroscience. Annual meeting New Orleans 1997; 23 (1): 891.
125. Gross C.E., Bednar M.M., Howard D.B., Sporn M.B. *Stroke* 1993; 24: 558–562.
126. Gschames A., Bando R., Sametz W., Windisch M. *Histochem J* 2000; 32 (2): 71–77.
127. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Myasoedov N.F. et al. *Cerebrovasc Dis* 1999; 9: 126.
128. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Raevsky K.S. et al. *Aktuelle Neurologie* 1998; 25 (3): 132.
129. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Zhuravleva E.Yu. et al. Neuropeptide semax (ACTH 4–10) in therapy of acute ischemic stroke. In: *2nd International Santa Margherita Ligure Symposium on New Therapeutic Strategies in Ischemic Stroke*. Genoa 1997; Nov: 55–56.
130. Gwag B.J., Canzoniero L.M., Sensi S.L. *Neuroscience* 1999; 90 (4): 1339–1348.
131. Haley E.C. on behalf of the RANTAS II investigators. *Stroke* 1998; 29: 1256–1257.
132. Haley E.C.Jr, Kassel N.F., Alves W.M. et al. *J Neurosurg* 1995; 82 (5): 786–790.

133. Hampson D.R., Windisch M., Bascys A. *Society for Neuroscience* 1997; 23: 1896.
134. Harrer G. *Dtsch Med Wochenschr* 1954; 79: 983.
135. Harrer G. *Arztliche Praxis* 1972; 24: 3595.
136. Henric-Noack P., Prehn J.H.M., Kreiglestein J. *Stroke* 1996; 27: 1609—1615.
137. Hernandez L.A., Grisham M.B., Towhite B. et al. *Am J Physiol* 1987; 253: H699—H703.
138. Hockenbery D.M., Oltvai Z.N., Xiao-Ming Y. et al. *Cell* 1993; 75: 241—251.
139. Herschkovitz M. *Biochim Acta* 1983; 692: 495—497.
140. Herschkovitz M., Zwiers H., Glspen W.H. *Biochim Acta* 1982; 692: 495—497.
141. Herschkovitz M., Neron D., Samuel D. et al. *Progr Brain Res* 1982; 56: 413—419.
142. Hussein O., Schlezinger S., Rosenblatt M. et al. *Atherosclerosis* 1997; 128: 11—18.
143. Hutter-Paier L., Grygar E., Frenthwirh M. et al. *J Neural Transm Suppl* 1998; 53: 363—372.
144. Hutter-Paier L., Grygar E., Windisch M. *J Neural Transm Suppl* 1996; 47: 267—273.
145. Hutter-Paier B., Steiner E., Windisch M. *J Neural Transm Suppl* 1998; 53: 351—361.
146. Iadecola C., Zhang F., Xu X. *Am J Physiol* 1995; 268: 286—292.
147. Issawdeh S., Lorentzen J.C., Mustafa M.I. et al. *J Neuroimmunol* 1996; 69 (1—2): 103—115.
148. Isuji S., Arita M., Nagai G. *J Biochem* 1983; 94 (1): 303—306.
149. Jamieson D.G., Reivich M., Alves W. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; 9 (1): S602.
150. Jean W.C., Spellman S.R., Nussbaum E.S., Low W.C. *Neuroscience* 1998; 43: 1382—1396.
151. Jensen M.L., Henriksen U., Dahl B.J. et al. *Allergy* 1998; 4 (2): 151—156.
152. Kadoya C., Domino E.F., Yang G.Y. et al. *Stroke* 1995; 26: 1035—1038.
153. Kamkin A.G., Kiseleva I.S., Kositskii I.G. et al. *Dokl Akad. Nauk SSSR* 1985; 284: 245—248.
154. Kane D.J., Ord T., Anton R. et al. *J Neurosci* 1995; 15: 273—275.
155. Kaplan A.Ya., Kochetova A.G., Neznayeva V. I. et al. *Neurosci Res Commun* 1996; 19 (2): 115—123.
156. Karasek F. In: 2nd Sowjet-Osterreich Symp. 1975; 155.
157. Karpiak S.E., Li Y.S., Hanadik S.P. *Clin Neuropharmacol (CNK)* 1986; 9: 338—348.
158. Karpiak S.E., Hanadik S.P., W. Kad. C. et al. *Crit Rev Neurobiol* 1990; 5 (3): 221—237.
159. Kassel N.F., Haley E.C., Apperson-Jones C. et al. *J Neurosurg* 1996; 84 (2): 221—228.
160. Kawamata T., Dietrich D.W., Schachner E. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8179—8184.
161. Kawamata T., Ren J., Chen T.C. et al. *Neuroreport* 1998; 9: 1441—1445.
162. Kinouchi H., Mizui T., Toris E. et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 21: 423.
163. Koike T., Tanaka T. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3892—3896.
164. Koper D. Cytokines in: Unique Neurotrophic Effect and Clinical Use. In: 1st International Mondsee Meeting. Unterach, Austria 1997; 6.
165. Koppi S. et al. *Wien Med Wochr* 1996; 145: 555—567.
166. Koppi S. et al. *Wien Med Wochr* 1996; 146: 1—8.
167. Krammer H. *Prakt Arzt* 1959; 13: 649.
168. Ledeen R.W. Gangliosides. In: *Handbook of Neurochemistry*. New York. Plenum Press 1983; 3: 41—90.
169. Lee A.-S. *Pract Arzt* 1976; 24: 907.
170. Lee J.M., Zipfel G.J., Choi D.W. *Nature* 1999; 399 (24): 7—14.
171. Lees K.R. *Lancet* 1998; 351: 1447—1448.
172. Lenzi G.L., Grigoletto F., Gent M. et al. *Stroke* 1994; 25: 1552—1558.
173. Leskova K.C., Rosenberg A. *Adv Exp Med Biol* 1980; 125: 125—135.
174. Lin S.Z., Haffer B.J., Kaplan P., Wang Y. *Stroke* 1999; 30: 126—133.
175. Lindholm D., Castren E., Klefer R. et al. *J Cell Biol* 1992; 1 (17): 395—400.
176. Linnik M.D., Zobrist R.H., Hatfield M.D. *Stroke* 1993; 24: 2002—2008.
177. Lodolick S.A. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 1894—1898.
178. Lombardi V.R., Windisch M., Garcia M. et al. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21 (5): 331—338.

179. Mahadik S.P., Hawver D.B., Hangung B.K. et al. *J Neurosci Res* 1989; 24 (3): 402—412.
180. Mahoney F.I., Barthel D.W. *Md State Med J* 1965; 14: 61—65.
181. Manev H., Costa E., Wroblewski J.T., Guidotti A. *BASEB J* 4: 2789—2797.
182. Marino M.W., Dunn A., Crail D. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8093—8098.
183. Mattson M.P., Murrain M., Guthrie P.B., Kater S.B. *J Neurosci* 1989; 9 (11): 3728—3740.
184. McDaniel R. *Biochem Biophys Acta* 1985; 819 (2): 153—160.
185. McGraw C.P. *Arch Neurol* 1977; 34: 334—336.
186. Miceli G. *Acta Psychiatr Scand* 1977; 55: 103—110.
187. Mihajlovic R., Jovanovic M., Djordjevic D., Jovicic A. *Cerebrovasc Dis* 1996; 6: 13.
188. Monaco P., Pastore L., Cottone S. et al. Early treatment of patients with ischaemic stroke: a double-blind study with monosialotetraacetosylganglioside (GMI). First International Conference on Stroke. 1991; 7.
189. Nakajima Y., Mori A., Maeda T., Fujimiyu M. *Brain Res* 1997; 765: 113—121.
190. Nanri K., Montecot C., Springhetti V. et al. *Stroke* 1998; 29: 1248—1257.
191. Ogawa A., Yoshimoto T., Kitachi H. et al. *Cerebrovasc Dis* 1999; 9: 112—118.
192. Onat M.Z., Fisher M. *Drugs Today* 1996; 32 (7): 573—592.
193. Onat M.Z., Fisher M. *Eur Neurol* 1997; 38: 141—154.
194. Orgogozo J.M., Dartigues J.F. In: *Acute Brain Ischemia/Molecular and Surgical Therapy* (Battistini N. ed.). New York, Raven Press 1986; 282—299.
195. Ortner S. *Prakt Arzt* 1956; 10: 360.
196. Pahan K., Sheikh F.G., Namboodiri A.M., Singh J. *Clin Invest* 1997; 100: 2671—2679.
197. Panetta T., Marcheselli V.L., Braquet P., Bazan M.G. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 559: 340—351.
198. Panse F. *Med Klin* 1955; 50: 942.
199. Partridge C.R. *Molec Pharmacol* 1977; 15 (2): 427—491.
200. Peters G.R., Hwang L.-J., Musch B. et al. *Stroke* 1996; 27: 195.
201. Polak J.M., Bloom S.R. *J Histochem Cytochem* 1979; 27 (10): 1398—1400.
202. Pollschuk N. Cerebrolysin in acute head injury and acute stroke. In: 1-st International Mondsee Medical Meeting, April 3, 1997, Mondsee 1997; 7.
203. Potaman V.N., Afjeeva L.Y., Kamenisky A.A. et al. *Biochem and Biophys Res Commun* 1991; 176 (2): 741—746.
204. Potaman V.N., Antonov L., Dumenil V.A. et al. *Neurosci Lett* 1991; 127: 133—136.
205. Potaman V.N., Afjeeva L.Y., Kamenisky A.A. et al. *Peptides* 1993; 14: 491—495.
206. Prehn J.H., Backhaus J., Kriegstein J. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 521—525.
207. Prehn J.H.M., Lindoka V.P., Marcuccilli C.J. et al. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994; 91: 12599—12603.
208. Ransford J. *Progress Scot Med J* 1957; 2: 200—215.
209. RAN/TAS investigators. *Stroke* 1996; 27: 195.
210. Rapport M.M. *Adv Exp Med Biol* 1980; 125: 435—438.
211. Rotondo D., Leniero G., Toffano G. *Aviat Space Environ Med* 1990; 61 (2): 162—164.
212. Scandinavian Stroke Study Group. *Stroke* 1985; 16: 885—890.
213. Schabitz W.R., Schwab S., Spranger M., Hacke W. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 500—506.
214. Seifert W. Gangliosides in nerve cell cultures. In: *Gangliosides in neurological and neuromuscular function, development and repair* (Rapport M.M., Gorio A. eds.) New York, Raven Press 1981; 99—117.
215. Sen S., Phyllis J.W. *Free Radic Res Commun* 1993; 19: 255—265.
216. Seren M.C., Rubini R., Lassaro A. et al. *Stroke* 1990; 21: 1607—1612.
217. Silver B., Weber J., Fisher M. *Clin Neuropharmacol* 1995; 19: 101—128.
218. Skvortsova V.I., Gusev E.I., Ashmarin I.P. et al. *Regulatory Peptides* 2000; 89: 81.
219. Smith C.W., Rothlein R., Hughes B.J. et al. *J clin Invest* 1988; 82: 1746—1756.
220. Smith W.B., Noack L., Khew-Goodall Y. et al. *J Immunol* 1996; 157 (1): 360—368.

221. Sommer H. In: 2nd Sowjet-Osterreich Symp 1975; 50.
222. Sommer H., Horrer G. *Folia Clin Intern* 1973; 23: 4.
223. Sommer H., Quandt J. *Schweiz Arch J Neurol Neurochir Psychiatr* 1973; 112: 373.
224. Sommer H., Quandt J. *Neuropsychiatry* 1987; 1 (2): 89–93.
225. Spong C.Y., Abebe D., Auth J. et al. *Regulatory Peptides* 2000; 89 (13): 82.
226. Stadler C. Current drug treatment of stroke. In: 1-st International Mondsee Medical Meeting, Austria, Unterach 1997; 3.
227. Staunton D.E., Merluzzi V.J., Rothlein R. et al. *Cell* 1989; 56: 849–853.
228. STIPAS investigators. *Stroke* 1994; 25: 418–423.
229. Sugra Y. et al. *J Brain and nerve* 1993; 45 (4): 325–331.
230. Svennerholm L. Biological significance of gangliosides. In: *Cellular and Pathological Aspects of Glycoconjugate Metabolism* (eds Dreyfus H. et al.) Paris, INSERM 1984; 21–44.
231. Tai F. *Proc Nat Acad Sci* 1983; 80 (17): 5392–5396.
232. Takasago T., Peters E.E., Graham D.I. et al. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 1251–1256.
233. Takeda A., Onodera H., Yamasaki Y. et al. *Brain Res* 1992; 569: 177–180.
234. Toffano G. *Brain Res* 1984; 256 (2): 233–239.
235. Toffano G., Savini G.E., Maroni F. et al. *Brain Res* 1983; 261: 163–166.
236. Young T.J.K., Traystman R.J., Hurn P.D. *Stroke* 1998; 29: 1666–1670.
237. Tsunawasi S., Sporn M., Ding A., Nathan C. *Nature* 1988; 334: 261–263.
238. Twitchell T.E. *Brain* 1951; 74: 443–480.
239. Urban P.F., Harth S., Frey J. et al. *Adv Exp Med Biol* 1980; 115: 1–157.
240. Urbanics R., Greenberg J.H., Toffano G. et al. *Stroke* 1989; 20: 791–802.
241. Vek R., Avrova P. *Zh Ekol Biochim Fiol* 1983; 19 (5): 507–510.
242. Wahlgren N.G. A review of earlier clinical studies on neuroprotective agents and current approaches. In: *Neuroprotective agents and cerebral ischaemia* (Green R., Cross A.J. eds.). San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press 1997; 357–363.
243. Waters C. RRI Neurotransmissions, Newsletter for Neuroscientist 1997; XIII: (2): 2–7.
244. Wender M., Mularek J., Godlewski A. et al. *Neurochir Pol* 1993; 27: 31–38.
245. de Wied D. *Progr Brain Res* 1987; 72: 93–100.
246. Windisch M. Cerebrolysin. In: *ESVET Pharmaceuticals*, Austria 1994; 14–22.
247. Windisch M., Gschwan A., Koller-Lindner D. *J Neural Transm Suppl* 1998; 53: 289–298.
248. Windisch M., Pilschinger A. *Neuropsychiatry* 1987; 1 (2): 83–88.
249. Wojcik M., Ulas J., Oderfeld-Jaskow B. *Neuroscience* 1982; 7: 495–499.
250. Wong M.-L. Recent progress in hemoinnate interactions. In: *Neuroscience, Neurology and Health* (ITO). Geneva 1997; 81–104.
251. Wong M.-L., Bonjorno B., Rottori V. *Exp Med J* 1997; 163: 740–745.
252. Xue D., Sano A., Buchan A.M. *Stroke* 1992; 23: 8948–99.
253. Yamaguchi T., Saito S., Takakura K. et al. *Stroke* 1998; 29: 12–17.
254. Yamaguchi Y., Maeno Y., Matsuura N. et al. *Stroke* 1995; 26: 318–323.
255. Yue T., Gu J.L., Lysko P.G. et al. *Brain Res* 1992; 574: 193–197.
256. Zhang R., Chopp M., Zaloga C. et al. *Neurology* 1994; 44: 1747–1751.
257. Zhang R.L., Chopp M., Jiang N. et al. *Stroke* 1995; 26: 1438–1442.

Глава 16

Терапия, направленная на улучшение регенераторно-репаративных процессов

Процесс формирования инфаркта мозга начинается с первых минут острой фокальной ишемии, и через 3—6 ч в нервной ткани уже существует зона необратимого морфологического повреждения. Это обуславливает необходимость проведения с первых часов заболевания наряду с нейропротективной терапией, направленной на предотвращение дальнейшего повреждения мозга и разрастания инфарктных изменений, лечения, улучшающего восстановительные регенераторно-репаративные процессы, пластичность нервной ткани, образование новых ассоциативных связей.

Трудно провести грань между нейропротективной и репаративной терапией. Большинство вторичных нейропротекторов совпадают и репаративными свойствами. Все нейротрофические факторы, модуляторы функционального состояния мембран и рецепторов (ганглиозиды), эндогенные регуляторы (нейропептиды) оказывают мощное влияние на выраженность восстановительных процессов, что обуславливает преобладание у большинства из них клинического воздействия на функциональный неврологический дефект (в отличие от первичных нейропротекторов) (см. главу 15). В то же время «преимущественно репаративные» средства могут оказывать и некоторое нейропротективное действие. Таким образом, выделение «репаративной терапии» носит весьма условный характер, подчеркивая лишь идеологическую важность этой терапевтической стратегии.

К препаратам репаративного действия, кроме описанных в главе 15, относят производные ГАМК, пиридитол, цитиколин, глиатилин, аплегин и др. Все они комплексно оказывают воздействие на метаболизм и кровоснабжение мозга.

16.1. Пирацетам

Пирацетам (2-оксо-1-пирролидинилацетамид; ноотропил, пирабем, *piracetam*, *nootropil*, *portabrain*, *pyramem*) — первый представитель ноотропов, давший название всей группе препаратов. Структурной основой пирацетама является циклическая форма ГАМК (2-пирролидон), однако препарат не является источником метаболически активной ГАМК. Пирацетам проходит через гематоэнцефалический барьер, достигая максимума концентрации в цереброспинальной жидкости через 3 ч. Период его полувыведения — 7,5 ч [34].

Метаболические эффекты препарата разнообразны, их можно сгруппировать в два блока: быстрое влияние на окислительно-восстановительные процессы и энергетический обмен и отсроченное регенераторно-репаративное действие [47, 76].

Установлено, что пирацетам улучшает окислительный метаболизм в условиях ишемии, препятствуя резкому снижению уровня АТФ, увеличивая скорость оборота АТФ и активируя синтез креатинфосфата; стимулирует активность аденилаткиназы, что позволяет осуществлять анаэробный метаболизм глюкозы без образования лактата; способствует поддержанию в условиях ишемии синтеза белков, сохраняя внутриклеточный аппарат рибосом; ускоряет синтез ДНК, РНК, фосфолипидов [22, 27, 28, 53, 59, 66]. Пирацетам тормозит продукцию и усиление утилизации ГАМК вследствие своего ГАМК-миметического постсинаптического действия, а также усиления компенсаторной функции ГАМК-шунта, обеспечивающего альтернативный механизм превращения α -кетоглутарата в сукцинат [29]. Метаболическая роль ГАМК-шунта заключается в дополнительных поставках энергично окисляющегося сукцината или наработке янтарного полуальдегида, способного восстанавливаться, образуя тем самым ГОМК и принимая на себя определенное количество протонов и электронов в условиях схватки кислорода [30]. Позитронно-эмиссионно-томографическое исследование подтвердило, что под влиянием пирацетама улучшается утилизация глюкозы в ишемизированной области мозга больных с ишемическим инсультом [56, 57]. Выявлены антиоксидантные свойства препарата, связанные с уменьшением интенсивности свободнорадикального окисления.

Важным аспектом метаболического действия пирацетама является его влияние на нейротрансмиссию и пластичность ткани мозга. Это влияние в отличие от быстрых энергетических эффектов проявляется отсроченно, через несколько дней после начала применения препарата. Пирацетам не связывается с рецепторами, но оказывает мембраностабилизирующее действие, улучшает жидкостные свойства мембранных структур [9, 22, 54, 51], увеличивает плотность холинэргических и глутаматных рецепторов, модулирует активность нейротрансмиттерных процессов, нормализует транскаллезный (межполушарный) информационный обмен [44, 63, 67].

Наряду с метаболическими эффектами пирацетам влияет на кровоснабжение мозга. Установлено, что препарат уменьшает адгезию и агрегацию тромбоцитов, увеличивает деформируемость мембран эритроцитов, снижает адгезию эритроцитов к поверхности эндотелия и друг к другу, нормализует вязкость крови [17]. При введении пирацетама животным с острой фокальной ишемией мозга было выявлено умеренное снижение системного АД и общего периферического сопротивления мозговых сосудов, увеличение регионарного мозгового кровотока [1]; продемонстрирована способность препарата уменьшать выраженность спазма мозговых артерий нейрогенного происхождения [20]. Предварительное (до индукции ишемии) применение пирацетама тормозило или предупреждало возникновение феномена «не восстановленного кровотока» (*no-reflow*) [16, 17].

Экспериментальные исследования на моделях острой фокальной ишемии мозга у животных выявили регенераторно-репаративный и нейропротективный эффекты пирацетама [42].

В нашей стране пирацетам был одним из первых метаболически активных препаратов, допущенных к применению в клинике при остром ишемическом инсульте. В 70-х годах препарат использовали в суточных дозах от 1,4 до 4 г. Введение пирацетама в таких дозах в первые дни ишемического инсульта не приводило к значительным изменениям состояния больных, не вызывало достоверного «пробуждающего» эффекта, не отражалось на исходе заболевания. Была выявлена корреляция между эффективностью препарата и характером клинического синдрома у больных: лучшие результаты лечения наблюдались при корковой локализации очага ишемии, когда в

клинической картине на первый план выступали расстройства высших психических функций и астенический синдром. Менее отчетливое действие пирацетам оказывал на регресс двигательных и чувствительных нарушений [24]. Преимущественное влияние пирацетама на выраженность нейропсихологических нарушений подтверждено работами С.Б. Буклиной [7], К. Рюск с соавт. [68], Р. Енбергу с соавт. [48].

Пилотные клинические испытания пирацетама в суточной дозе, превышающей 6 г, подтвердили благоприятное действие его на течение каротидного ишемического инсульта и обосновали необходимость проведения рандомизированного мультицентрового исследования [59, 60, 67]. Однако такое исследование, включившее 927 больных, которые получали пирацетам начиная с первых 12 ч заболевания и в течение следующих 12 нед (при поступлении вводили внутривенно болюсно 12 г, затем в течение 4 нед внутривенно капельно в суточной дозе 12 г, последующие 8 нед — по 4,8 г/сут перорально), не выявило улучшения исхода заболевания (по шкале Оргозоу) и снижения летальности на фоне лечения препаратом. Только при субгрупповом анализе была обнаружена тенденция к улучшению неврологического исхода у больных, которым лечение пирацетамом было начато в первые 7 ч после развития инсульта ($p=0,07$) [45]. В настоящее время проводится специальное мультицентровое рандомизированное плацебо-контролируемое испытание пирацетама с его назначением в пределах 7-часового временного «окна».

16.1.1. Мониторное клинико-нейрофизиологическое изучение дозозависимой эффективности пирацетама (ноотропила) при ишемическом инсульте

Для изучения дозозависимого эффекта пирацетама в неврологической клинике Российского государственного медицинского университета было проведено обследование 115 больных (60 мужчин и 55 женщин; средний возраст $63,7 \pm 9,7$ года) в основном в первые 12 ч каротидного ишемического инсульта, поступивших в стационар не позднее 12 ч с момента развития заболевания [10, 11, 33]. Исследования проводили по согласованию с Этическим комитетом университета после получения устного или письменного согласия больных или их представителей. Критерии «включения» и «исключения» были аналогичны используемым при проведении испытаний других метаболически активных препаратов (см. главы 14 и 15).

В основной группе 55 больным на фоне базисной, максимально унифицированной терапии проводили лечение пирацетамом (ноотропилом). Другие препараты с потенциальным регенераторно-репаративным и нейропротективным действием в лечении не использовали. Контрольную группу составили 60 больных, получавших лишь «фоновую» терапию без включения метаболически активных препаратов (см. главу 15).

Больные основной и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, локализации и тяжести сосудистого поражения. В обеих группах несколько преобладали мужчины: 53,7 % в контрольной группе и 51,7 % в основной. Большинство больных были старше 55 лет (78,6 и 77,7 % соответственно). У 55 % (33 из 60) больных контрольной группы и 52,7 % (29 из 55) основной группы инсульт развился в левом полушарии большого мозга.

Методы клинической оценки состояния больных, построение исследования и статистическая обработка были идентичны использованным при испытании церебролизина и кронассала. На момент госпитализации у

63,3 % (38 из 60) больных контрольной и 63,6 % (35 из 55) основной групп состояние было оценено как средней тяжести; у 36,7 и 36,4 % соответственно — как тяжелое. В качестве основных «конечных точек» исследования были выбраны безопасность препарата, степень регресса неврологического дефицита по оригинальной шкале, степень функционального восстановления по индексу Бартела и 30-дневная летальность.

Для изучения влияния пирацетама на функциональное состояние головного мозга проводили комплексное нейрофизиологическое мониторирование, включающее исследование спонтанной биоэлектрической активности мозга при помощи ЭЭГ с частотно-спектральным анализом и ТСК ЭЭГ, исследование ССВП и КСВП на акустическую стимуляцию. Больных обследовали при поступлении в клинику, на фоне первого применения препарата и в течение последующих 4 ч, а также повторно: на 2-е, 4—6-е, 10—14-е, 20—22-е и 28—30-е сутки. Описание методов приведено в разделе 14.5.2.

Исследование проводили в 2 этапа. Целью I этапа был сравнительный анализ эффективности пирацетама у больных в острейшем периоде инсульта в зависимости от его дозы и скорости введения. Препарат применяли в суточной дозе от 0,05 до 0,2 г/кг (от 4 до 12 г) внутривенно капельно или струйно и вводили на протяжении первых 5 дней. На II этапе проводили длительный (на протяжении всех 30 дней наблюдения в клинике) курс лечения пирацетамом в установленных на I этапе исследования оптимальных суточных дозах.

Результаты I этапа исследования свидетельствуют, что у большинства (75 %) больных, получавших пирацетам, отмечалось регрессирующее течение заболевания, сопровождавшееся стабильным регрессом общемозговой и очаговой симптоматики. Ремиттирующее и прогрессирующее течение наблюдалось соответственно у 17,5 и 7,5 % больных (почти аналогичные показатели получены и в контрольной группе). Наиболее эффективным препарат оказался при лечении больных с инсультом средней тяжести и превалированием в клинической картине очаговой неврологической симптоматики. У 19,2 % больных влияние пирацетама проявлялось после первого введения субъективным улучшением общего состояния, уменьшением выраженности головной боли, речевых нарушений и некоторым повышением двигательной активности. Статистическое сопоставление темпов и выраженности неврологического восстановления на фоне лечения пирацетамом и в контрольной группе выявило достоверное ускорение регресса неврологических нарушений лишь у больных с инсультом средней тяжести и левополушарной локализацией ишемического процесса. В этих случаях к 6-м суткам заболевания (по окончании курса терапии) отмечался прирост суммарного клинического балла, превышающий на 88,7 % показатель контрольной группы ($p < 0,002$). Количественная оценка динамики отдельных очаговых симптомов установила значимое улучшение восстановления высших психических функций, прежде всего речевых, у больных, леченных пирацетамом ($p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой). Достоверных различий в динамике других очаговых нарушений выявлено не было ($p > 0,05$). У больных с правополушарным инсультом определялись лишь тенденции к ускорению восстановительной динамики на фоне терапии пирацетамом ($p = 0,09$).

Следует подчеркнуть, что при коротком (5-дневном) курсе лечения пирацетамом положительное влияние его на восстановительные процессы полностью нивелировалось к 30-м суткам заболевания, не было выявлено различий между группами в приросте суммарного клинического балла к

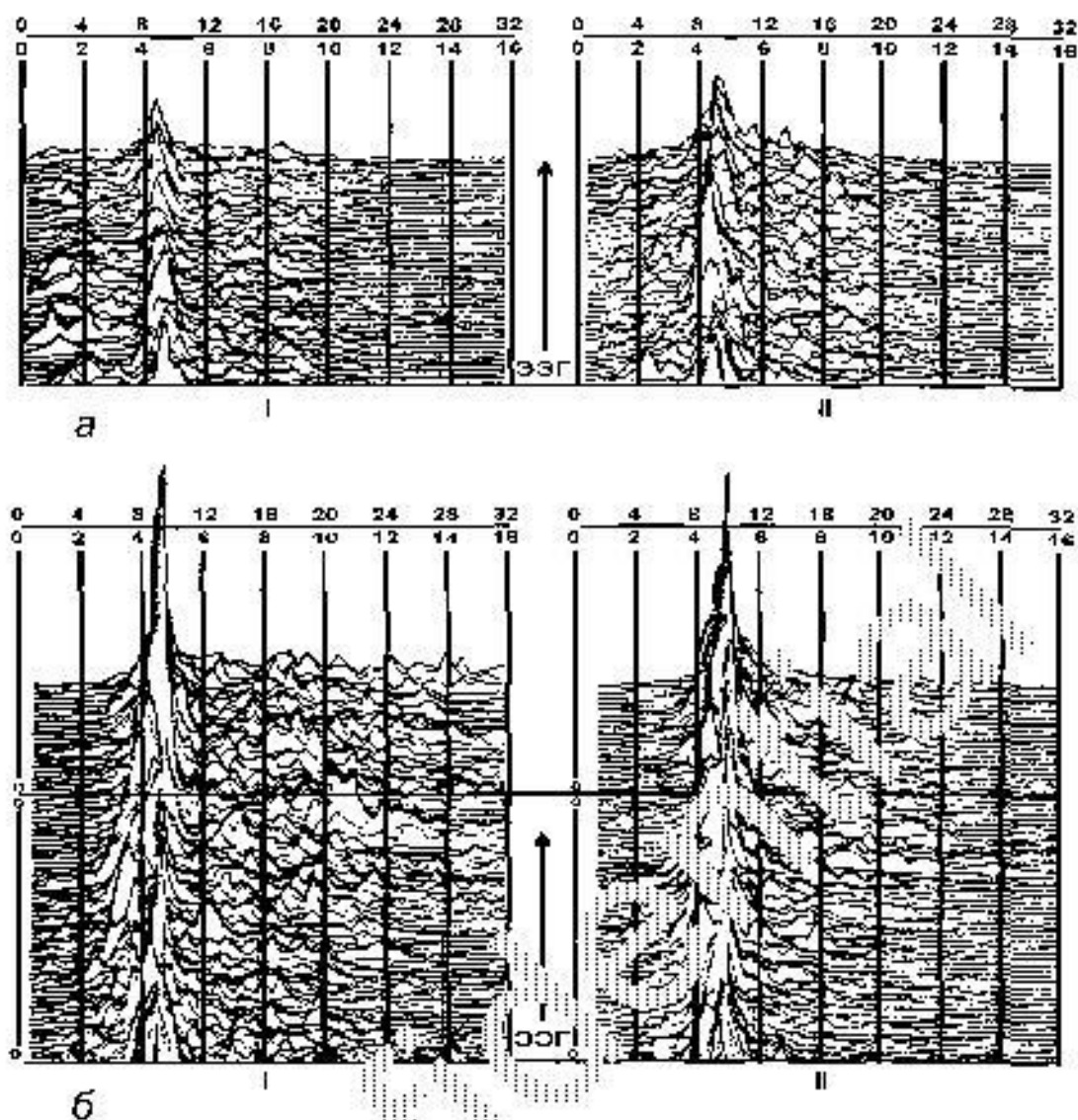


Рис. 16.1. Компрессированный спектральный анализ ЭЭГ больного К., 55 лет, с ишемическим инсультом в корковых ветвях правой средней мозговой артерии на фоне лечения пираркетамом.

а — фоновое исследование (до начала заболевания); б — после первого введения пираркетамы (15 мл 20% раствора внутривенно струйно). I — правое полушарие, II — левое. На фоне введения пираркетамы — увеличение мощности спектра ЭЭГ, преимущественно за счет основного α -1-ритма на стороне инсультного МПА. По оси абсцисс — шкала частот в Гц, по оси ординат — мощность спектра ЭЭГ — в $\mu\text{В}^2/\text{Гц}$.

концу острого периода: при левополушарном инсульте прирост составил $4,5 \pm 0,5$ в основной и $4,59 \pm 0,48$ в контрольной группах ($p > 0,05$), при правополушарном — $3,6 \pm 1,56$ и $4,76 \pm 0,66$ соответственно ($p > 0,05$). Это дало основание предположить необходимость более длительного применения препарата.

У больных с инсультом средней тяжести положительная клиническая динамика, отмеченная на фоне лечения пираркетамом, сопровождалась нормализацией спонтанной биоэлектрической активности мозга в виде достоверного увеличения суммарной мощности частотного спектра ЭЭГ, преимущественно за счет основного α -1-ритма на стороне инсультного полушария (рис. 16.1). Данная реакция ЭЭГ отмечалась уже через 1 ч после

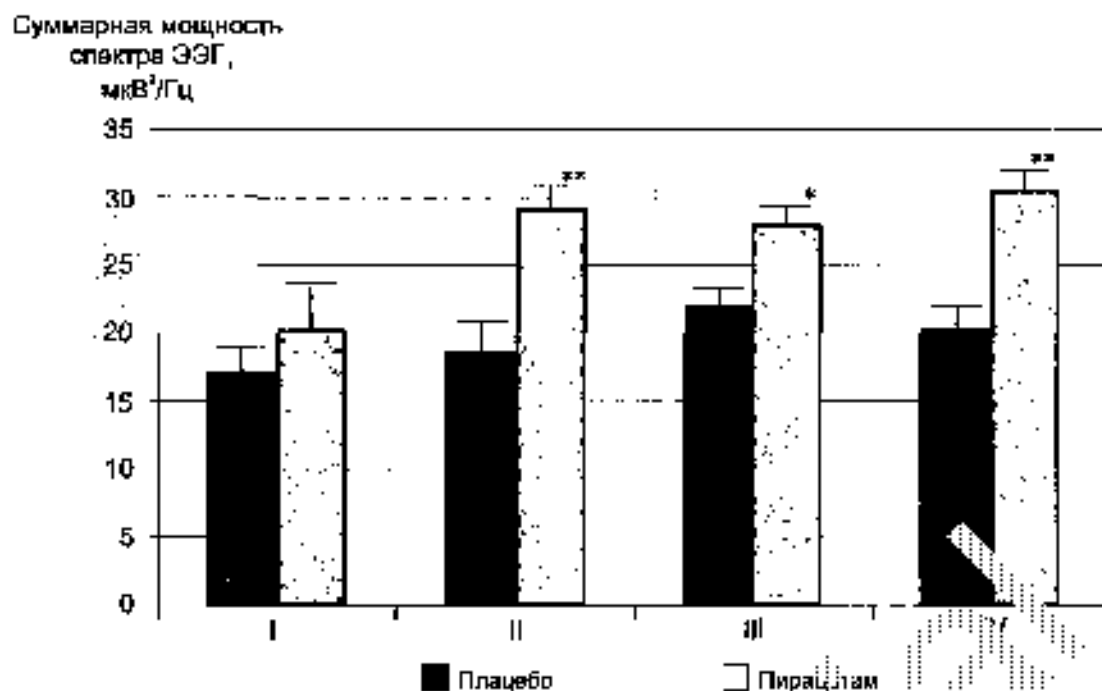


Рис. 16.2. Влияние пирацетама на суммарную мощность спектра ЭЭГ в первые дни ишемического инсульта.

I — до начала терапии; II — через 1 ч после введения препарата; III — 2-е сутки; IV — 3-и сутки. Достоверность различий с группой «плацебо»: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$.

1-го введения пирацетама и сохранялись на 2-е и 3-и сутки (рис.16.2). Наблюдали также уменьшение выраженности дисфункции мезоэнцефальных структур ствола мозга по данным КЭВГ, что проявлялось тенденцией к нормализации исходно удлиненных длительных периодов $N5$ и $N3$ компонентов и укорочению межпериодического интервала $N3-N5$.

При тяжелом течении инсульта с клиническими признаками отека мозга, нарушением сознания, вегетативно-трофическими изменениями применение пирацетама оказалось неэффективным. На фоне 1-го введения препарата ни в одном случае не было зарегистрировано «пробуждающего» эффекта или какой-либо другой положительной клинической динамики. У 3 больных с суботалными поражениями полушария мозга, нарушением сознания до уровня сопора, вегетативными расстройствами и грубым очаговым дефектом после внутривенного струйного введения пирацетама в дозе 0,1 г/кг наблюдали психомоторное возбуждение и пароксизмальные колебания мышечного тонуса. Прирост средней величины суммарного клинического спектра 6-и суткам после развития инсульта у тяжелобольных, получавших пирацетам, соответствовал контрольному значению ($p > 0,05$). Количественный анализ динамики очаговых симптомов выявил тенденцию к отставанию в темпах и выраженности регресса двигательных и афатических нарушений на фоне лечения пирацетамом по сравнению с аналогичной по тяжести контрольной группой. Различий в показателях летальности в основной и контрольной группах не обнаружено ($p > 0,05$).

По-видимому, негативное влияние пирацетама на течение тяжелого инсульта можно объяснить неадекватной гиперактивацией энергетического метаболизма мозга. Подтверждением этому явилась провокация введением препарата у 33,3 % тяжелобольных нестабильности спектра ЭЭГ (рис. 16.3), чему в клинической картине соответствовало возникновение психомотор-

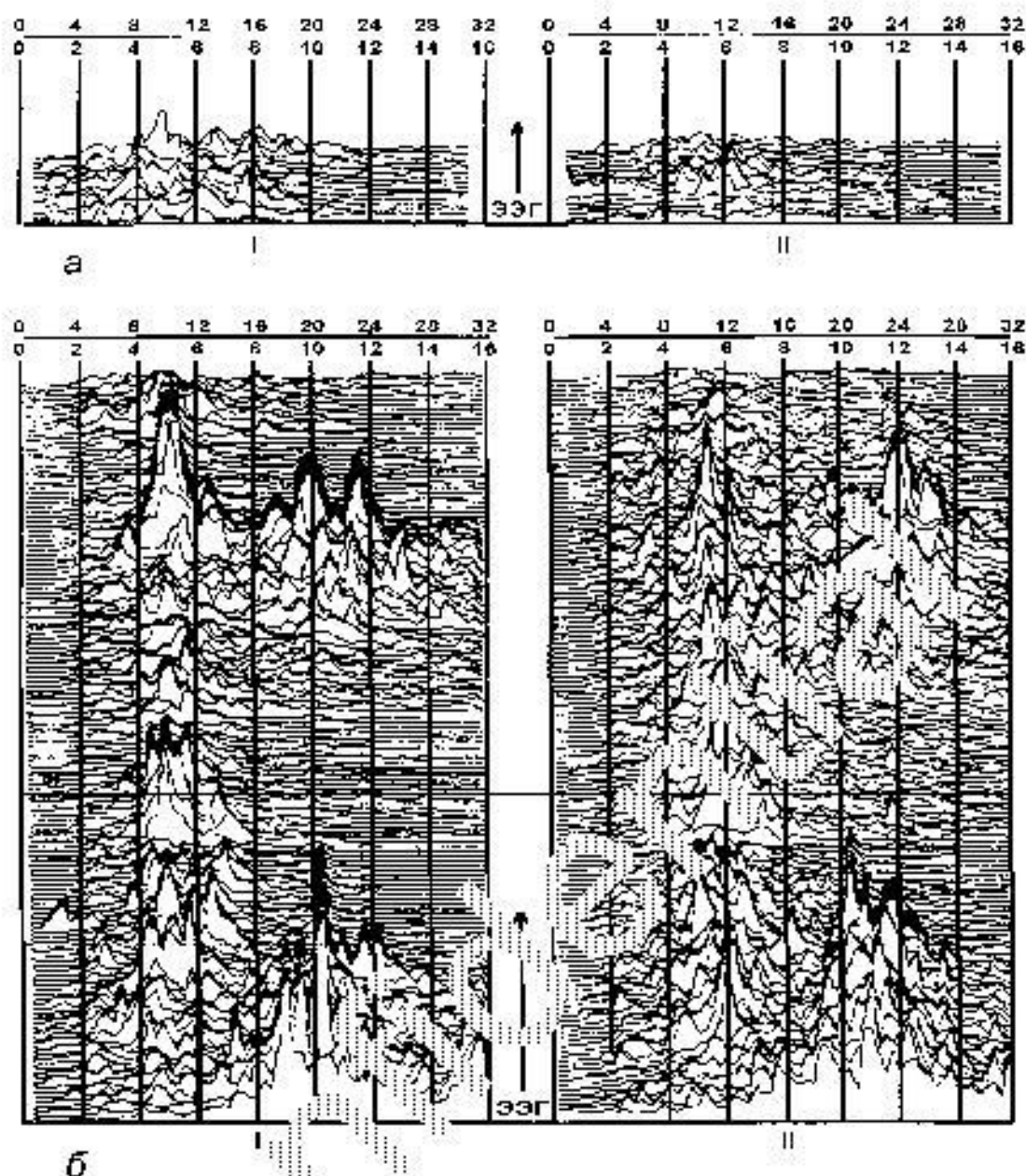


Рис. 16.3. Компрессионный спектральный анализ ЭЭГ больного Р., 61 года, с ишемическим инсультом в системе правой внутренней сонной артерии (тяжелое состояние) на фоне лечения пирацетамом.

а — фоновое исследование (первые 6 ч заболевания); б — после первого приступа пирацетама (доза 20%); звезды — внутризонно струй; I — правое полушарие, II — левое. Провокация на фазу быстрого ЭЭГ — пирацетамом. По оси абсцисс — шкала частот — в Гц; по оси ординат — мощность спектра ЭЭГ — в $\text{мкВ}^2/\text{Гц}$.

ного возбуждения и пароксизмальных нарушений мышечного тонуса. Следует отметить, что в подобных случаях фокальные изменения на ЭЭГ сохранялись в течение всего острого периода инсульта без тенденции к нормализации. Характерными были стойкий δ - θ -очаг в проекции ишемизированной части мозга и межполушарная асимметрия по мощности α -диапазона с ее преобладанием в «интактном» полушарии. Обнаруживалось также ухудшение функционального состояния мезодиллефальных структур мозга по данным КСВП.

Сравнительное изучение эффективности пирacetам в зависимости от способа (внутривенно капельно или струйно) и частоты (2 или 4 раза в сутки) его введения не выявило каких-либо достоверных различий.

Клинико-нейрофизиологическое сопоставление эффективности пирacetам в зависимости от его суточной дозы показало, что использование малых доз (менее 0,1 г/кг) не улучшало клинической динамики и не оказывало значимого влияния на спонтанную биоэлектрическую активность мозга. Мониторирование ЭЭГ после введения малых доз препарата выявило лишь кратковременное (сохраняющееся в течение 40—90 мин после инфузии) повышение мощностных показателей частотного спектра. При назначении пирacetам в суточной дозе 0,1—0,2 г/кг (6—12 г) больным с инсультом средней тяжести отмечены достоверное опережение темпов регресса неврологической симптоматики по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), а также благоприятное влияние препарата на функциональное состояние мозга (по данным ЭЭГ и ТСК ЭЭГ).

С учетом результатов, полученных на I этапе исследования, на II этапе пирacetам (ноотропил) назначали только больным с исходным (на момент поступления в клинику) состоянием средней тяжести, причем препарат вводили длительно и в более высоких дозах: в момент поступления — внутривенно болюсно в дозе 12 г, затем на протяжении 15 мин внутривенно капельно в суточной дозе 12 г, в последующем, до 30-х суток, — перорально в суточной дозе 4,8 г.

Препарат хорошо переносился больными, не вызывая значимых побочных эффектов.

Статистический анализ установил в группе больных, леченных пирacetамом, достоверное улучшение клинической динамики с более выраженным приростом суммарного балла по ранней шкале как к 6-м, так и к 30-м суткам заболевания ($p < 0,05$ при левополушарной и $p = 0,05$ при правополушарной локализации ишемии). К 30-м суткам после развития инсульта в группе леченных пирacetамом отмечалось статистически значимое увеличение доли больных с полным восстановлением нарушенных неврологических функций (по индексу Бартеля — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой).

Изучение динамики высших психических функций нейропсихологическими методами показало, что независимо от локализации очага ишемии наиболее значимым было восстановление функций, топически связанных с очагом поражения. В большей мере регресс нарушений был выражен при поражении заднего полушария большого мозга. Влияние пирacetам на «интактное» полушарие оказалось менее значимым.

Мониторирование ЭЭГ и ТСК ЭЭГ подтвердило позитивное действие препарата на спонтанную биоэлектрическую активность мозга, которое отчетливо проявилось уже через 20—30 мин после его введения. Отмечали увеличение суммарной мощности спектра ЭЭГ, прежде всего за счет возрастания мощности основного α -1-диапазона, повышение частоты доминирующего α -ритма на 1—2 Гц, тенденцию к нормализации зонального распределения α -активности. Мощность медленных δ - и θ -волн несколько нарастала в течение первого часа мониторирования, но затем возвращалась к исходному уровню. К 6-м суткам заболевания регистрировали частичную нормализацию паттерна ЭЭГ без значимых изменений его основных частотно-мощностных характеристик. Однако к 30-м суткам определялись достоверное по сравнению с контрольной группой увеличение мощности α -диапазона не только в «интактном», но и в ишемизированном полушарии, а также улучшение его зонального распределения (рис. 16.4).

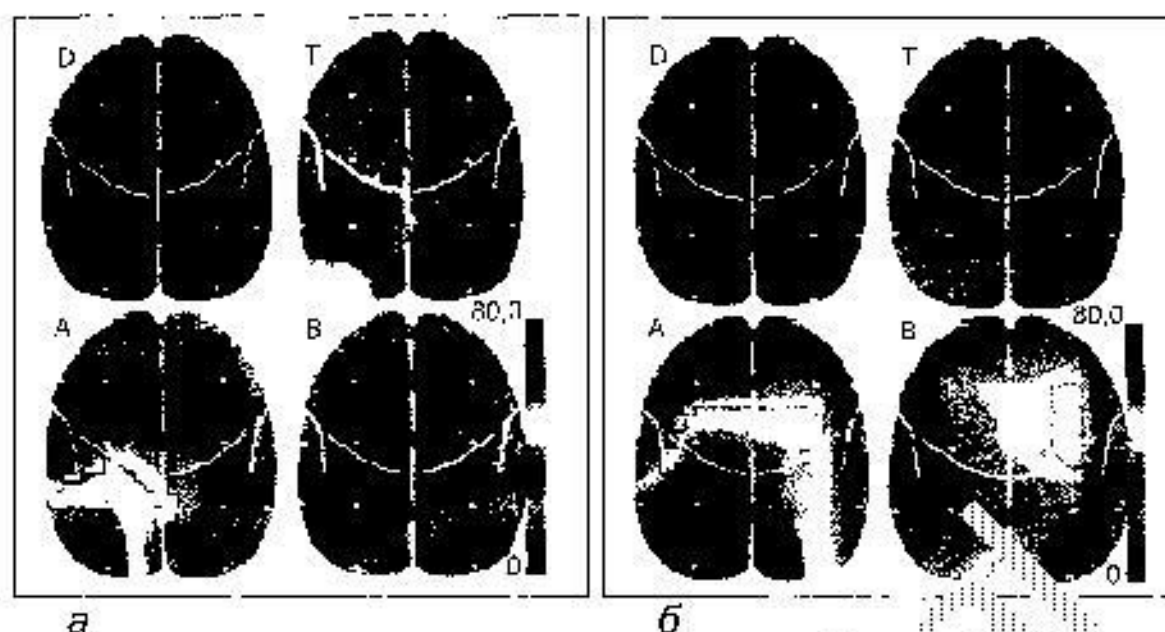


Рис. 16.4. Картограммы ЭЭГ больной В., 48 лет, в δ (D)-, θ (T)-, α (A)- и β -диапазонах на фоне лечения пирацетамом.

а — первые 10 ч с момента развития инсульта в бассейне правой средней мозговой артерии (до окончания пирацетама); средний энергетический уровень частотного спектра ЭЭГ (40–80 мкВ²/Гц), грубая МПА по α -1-диапазону, $D < 5$; б — на 11-е сутки после развития инсульта (по окончании курса лечения пирацетамом); бм — выраженное увеличение мощности и частоты «ускоренного» α -ритма с улучшением зонального распределения. Частотные диапазоны: δ — 1,4–3,9 Гц; θ — 4,0–6,9 Гц; α — 7,0–11,9 Гц; β — 12,0–31,0 Гц.



Рис. 16.5. Зональное распределение амплитуды пререпландического компонента N-30 соматосенсорных вызванных потенциалов у больной П., 63 лет, с ишемическим инсультом в системе левой внутренней сонной артерии до (а) и по окончании (б) курса лечения пирацетамом.

Повышение амплитуды, уменьшение латентного периода и нормализации зонального распределения N-30.

У 80 % больных, получавших пирацетам, выявлена положительная динамика ССВП. Наиболее значимые изменения определялись со стороны перероландического компонента *N-30*, генераторы которого по локализации соответствуют полям 4 и 6 по Бродману (рис. 16.5). К 6-м суткам были отмечены увеличение амплитуды компонента *N-30*, тенденция к нормализации его латентного периода и зональной представленности (билатерально в лобных отделах с преобладанием в контралатеральном стимуляции полушарии). В ряде случаев нормализация компонента *N-30* предшествовала нормализации ЭЭГ. С учетом современных представлений о *N-30* как о первом «транскаллезном» компоненте ССВП можно предположить, что улучшение ассоциативных межполушарных связей, проявляющееся через несколько дней после начала лечения пирацетамом, создает основу для дальнейшего регресса очагового дефекта и его более полной функциональной компенсации. Возможно, ускоренная под влиянием пирацетама нормализация функционального состояния передних отделов мозга частично объясняет преимущественное действие препарата на восстановление речевых и двигательных функций.

Наряду с положительной динамикой компонента *N-30* в процессе применения пирацетама наблюдалась нормализация длиннолатентных компонентов ССВП (*N-150*, *P-240*), что отражало благоприятное влияние препарата на неспецифические проводящие системы мозга. Темп нормализации вызванной активности мозга был наибольшим за период с 5-х по 20-е сутки заболевания. Особенно существенной была динамика болевых компонентов ССВП в отведениях от височных и височно-теменных отделов мозга, клиническим коррелятом чего являлось улучшение речи и памяти.

Исследование коротколатентных стволовых вызванных потенциалов на акустическую стимуляцию подтвердило улучшение функционального состояния мезодиэнцефальных структур головного мозга на фоне лечения пирацетамом.

Таким образом, проведенное комплексное клинико-нейрофизиологическое исследование подтвердило эффективность и хорошую переносимость пирацетама (ноотропила) при лечении каротидном ишемическом инсульте средней тяжести. Введение препарата в течение первых 15 дней заболевания внутривенно в суточной дозе 0,1—0,2 г/кг (6—12 г) и в течение последующих 15 дней перорально в суточной дозе 4,8 г позволило достоверно улучшить регресс неврологических нарушений и функциональное восстановление больных в конце острого периода инсульта. Подтверждено преимущественное влияние пирацетама на восстановление речевых и в меньшей степени двигательных функций. Необходимость длительного применения препарата, по-видимому, связана с отсроченными метаболическими его эффектами: ускорением регенераторно-репаративных процессов, повышением пластичности ткани мозга, улучшением межполушарных ассоциативных связей.

Эффективность пирацетама, как и других метаболически активных препаратов, была более выраженной при локализации ишемического процесса в левом полушарии большого мозга, что может быть связано с «командными» функциями доминантного полушария, большей подвижностью его нейродинамических процессов, а также с достоверным преобладанием при поражении левого полушария обратимой «генерализованной дисфункции мозга», сопровождающей развитие любого ишемического инсульта и регрессирующей к 3—5-м суткам заболевания [33].

Исследование показало нецелесообразность применения пирацетама (ноотропила) в остром периоде тяжелого ишемического инсульта с наруше-

нием сознания, вегетативно-трофическими расстройствами и признаками отека мозга. В этих случаях препарат не улучшал восстановительных процессов, более того, у некоторых больных наблюдалось замедление регресса очагового дефекта. Учитывая данные нейрофизиологического мониторинга влияния пирацетама на функциональное состояние мозга, можно предположить обусловленность его негативных эффектов неадекватной гиперактивацией энергетического метаболизма.

16.2. Пикамилон

Отечественный препарат пикамилон (никотиноил ГАМК), синтезированный в 1970 г., представляет собой натриевую соль *N*-никотиноил- γ -аминомасляной кислоты. В отличие от пирацетама пикамилон содержит в своей структуре линейную молекулу ГАМК. От исходных соединений пикамилон отличается своей фармакодинамикой: быстрее, чем никотинат, всасывается в кровь из места введения; лучше, чем ГАМК, проникает через гематоэнцефалический барьер; в большем количестве накапливается в головном мозге [31]. Пикамилон практически не подвергается метаболизации.

Основной эффект препарата — его действие на энергетический метаболизм мозга. Препарат стимулирует окислительно-восстановительные процессы, повышает потребление нервной тканью кислорода и глюкозы, после ишемии способствует восстановлению процессов утилизации энергетических субстратов, предотвращает нарастание концентрации молочной кислоты в ткани мозга, стимулирует оборот АТФ. По данным В.А. Розанова [30], пикамилон усиливает деятельность ГАМК-эстеразы, повышая утилизацию α -кетоглутарата. Установлено тормозящее влияние препарата на активность ацетилхолинэстеразы и моноаминоксидазы, что способствует процессам нейротрансмиссии [3].

По сравнению с другими никотиноидными ГАМК и никотиновой кислотой пикамилон оказывает более сильное и длительное влияние на мозговой кровоток. Препарат снижает тонус мозговых сосудов во всех артериальных бассейнах, вызывает расширение периферических артериол, что связано с его воздействием на центральные серотонинергические процессы вазомоторной регуляции [3, 5].

Назначение больным с ишемическим инсультом таблетированной формы пикамила на в уточной дозе 400 мг со 2—3-й недели заболевания улучшало общее состояние и ускорило регресс очаговых неврологических нарушений, особенно при «малых» инсультах и инсультах средней тяжести [14, 25]. Примерно в 12 % случаев отмечались побочные эффекты препарата в виде умеренной головной боли, нарушений сна, незначительных колебаний АД, ощущений вялости и «разбитости», появления перебоев в области сердца, аллергических проявлений [2].

Нами проведено исследование эффектов пикамилон (внутривенное струйное введение по 2 мл 10 % раствора 2 раза в день) в остром периоде ишемического инсульта при начале терапии в первые 12 ч заболевания [10, 33].

Установлено, что применение пикамилон в первые часы и дни после развития инсульта целесообразно при полушарной локализации ишемии и средней тяжести состояния больных, в случаях преобладания в клинической картине очаговых симптомов. Особенно благоприятно действовал препарат на течение инсульта и его исход при ограниченных корковых очагах

ишемии. Использование пирацетона при тяжелых ишемических инсультах оказалось неэффективным. Следует отметить, что в отличие от пирацетана эффективность пирацетона зависела не только от тяжести заболевания и локализации сосудистого поражения, но и от состояния системы реологии и свертывания крови, реактивности сосудов мозга и наличия сопутствующей кардиальной патологии. Даже при инсультах средней тяжести препарат можно было назначать не всем больным. При наличии выраженных гиперкоагуляционного и гиперагрегационного синдромов пирацетон значительно ухудшал прогноз заболевания, способствовал замедлению регресса очагового дефекта ($p < 0,05$). Этому соответствовало негативное влияние препарата на спонтанную биоэлектрическую активность мозга, которое проявлялось резким уменьшением мощности всех частотных диапазонов ЭЭГ в ишемизированном полушарии, особенно в проекции очага ишемии. Подобное действие пирацетона может быть связано с развитием синдрома «обкрадывания» в перинфарктной зоне за счет стойкого вазодилатирующего и кратковременного гиперкоагуляционного влияния компонента пирацетановой кислоты.

Строгими противопоказаниями к назначению пирацетона являются острые и хронические заболевания почек; наличие ишемических изменений на ЭКГ и указаний в анамнезе на перенесенный в последние несколько месяцев инфаркт миокарда из-за опасности провокации острой сердечной недостаточности.

16.3. Пиридитол

Пиридитол (энцефабол, pyritinol, piritinol) по химической структуре представляет дисульфид пиридоксина (витамин В₆). Как и производные ГАМК, препарат оказывает комплексное действие на метаболизм и кровоснабжение мозга. Пиридитол активирует синаптически-восстановительные процессы, способствует восстановлению процессов утилизации энергетических субстратов после ишемии, увеличивает энергетический потенциал нейронов за счет повышения синтеза АТФ и креатинфосфата и ускорения метаболического оборота АТФ, улучшает утилизацию глюкозы, повышая устойчивость ткани мозга к гипоксии-ишемии и значительно уменьшая продолжения лактат-ацидоза [2, 26, 39, 49, 58]. Наряду с этим препарат достоверно увеличивает содержание ацетилхолина в структурах мозга и интенсифицирует холинэргическую нейротрансмиссию, что объясняет его отсроченные регенеративно-репаративные эффекты и направленное влияние на механизмы памяти [49, 55, 74]. Благоприятное действие пиридитола на микроциркуляцию обусловлено его антиагрегационными, антиадгезионными и антиспастическими свойствами.

Препарат нашел широкое применение при разных видах деменции, в том числе сосудистого генеза. В проведенных мультицентровых исследованиях отмечено значительное улучшение общего состояния больных, принимавших суспензированную форму пиридитола (энцефабола) в суточной дозе 600 мг, что проявлялось повышением двигательной активности, улучшением памяти и внимания, сопровождалось приростом общего суммарного клинического балла, а также ускоренной нормализацией паттерна ЭЭГ [15, 65, 72]. Показана эффективность внутривенных инфузий пиридитола (энцефабола) в суточной дозе 1 г у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой [75]. Препарат уменьшает выраженность общемозговых симптомов, увеличивает уровень бодрствования и двигательной ак-

тивности пациентов, поступивших в клинику в состоянии комы. Нейрофизиологическое мониторирование на фоне введения пиридитола установило уменьшение представленности в паттерне ЭЭГ медленных частотных диапазонов, выраженное ускорение центрального афферентного проведения, нормализацию амплитуд и характера зонального распределения коротколатентных ССВП.

Как правило, препарат хорошо переносится больными. Побочные эффекты редки, включают аллергические реакции, нарушение функции печени, перевозбуждение. Противопоказаниями к назначению пиридитола являются повышенная чувствительность, непереносимость фруктозы, тяжелые нарушения функций почек, печени, крови, аутоиммунные заболевания.

В настоящее время проводятся пилотные клинические испытания внутривенной формы препарата в суточной дозе 1 г в остром периоде каротидного ишемического инсульта. На 1 этапе исследований получены обнадеживающие результаты: установлена способность пиридитола улучшать восстановительные процессы и улучшать клинический и функциональный исходы инсульта.

16.4. Цитиколин

Цитиколин (citicoline sodium, cytidine-5'-phosphate, choline, CDP-choline) — природное эндогенное соединение, которое является промежуточным звеном в реакциях синтеза фосфатидилхолина клеточных мембран. Он оказывает мембраностабилизирующий и антиоксидантный эффекты, угнетает образование свободных жирных кислот, участвующих в генерации свободных радикалов при острой ишемии мозга, а также значительно индуцирует синтез ацетилхолина в нервных тканях [47, 64].

При экспериментальном инсульте у животных цитиколин достоверно снижал размеры инфаркта мозга и улучшал неврологический исход [37, 69].

Клинические исследования Р.А. Erietz с соавт. [70] и Х.А. Alvarez с соавт. [36] показали улучшение когнитивных функций и поведенческих реакций на фоне лечения цитиколином больных с нарушениями памяти. Препарат хорошо переносится больными, не было зарегистрировано его побочных эффектов [71].

Испытания цитиколина при остром ишемическом инсульте подтвердили его эффективность, а также продемонстрировали, что пероральное применение препарата в суточной дозе 0,5 г на протяжении нескольких недель заболевания приводит к улучшению восстановления нарушенных неврологических функций [39, 73]. В 3-й фазе клинических испытаний на фоне лечения цитиколином установлено достоверное улучшение неврологического статуса у больных с инсультами разной тяжести [40]. Важно отметить, что протокол исследований разрешил позднее начало терапии цитиколином — в пределах 24 ч с момента развития инсульта, что являлось существенным отличием от требований, предъявляемых к испытаниям нейропротекторов при острой ишемии мозга. Недавно закончившееся дополнительное испытание цитиколина у больных с инсультами разной тяжести при первичной оценке исходов лечения не подтвердило его достоверной эффективности [52]. Испытания препарата продолжаются.

16.5. Глиатилин

Глиатилин (α -глицерилфосфорилхолин, α -glycerylphosphorylcholine) — соединение, содержащее 40 % холина и превращающееся в организме в метаболически активную форму фосфорилхолин, способный проникать через гематоэнцефалический барьер и активировать биосинтез ацетилхолина в пресинаптических мембранах холинергических нейронов [32]. В экспериментах на животных показано, что глиатилин предупреждает индуцированный холинергический дефицит, предотвращает развитие деменции, облегчает процессы обучения и запоминания за счет увеличения синтеза и высвобождения ацетилхолина в мозговых структурах [62]. Другим механизмом действия глиатилина является анаболический эффект, проявляющийся в стимуляции мембранного и глицеролипидного синтеза вследствие образования предшественников фосфолипидов мембран из продуктов его метаболического распада [38]. Таким образом, механизмы регенераторно-репаративных свойств глиатилина очень близки к описанным у цитиколина. Глиатилин активирует холинергическую нейротрансмиссию, повышает пластичность ткани мозга, оказывает мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие [50, 61].

Пилотные клинические исследования глиатилина в остром периоде тяжелого ишемического инсульта (внутривенные вливания в дозе 1 г 3—4 раза в сутки в течение 5 дней) выявили «пробуждающий» эффект препарата. Отмечались уменьшение выраженности нарушений дыхания и кровообращения, улучшение показателей церебральной оксиметрии, положительная динамика стволовых вызванных потенциалов на акустическую стимуляцию, что свидетельствовало о нормализации функционального состояния ствола мозга [8]. Отмечено также благоприятное влияние глиатилина на психическую деятельность больных, память, восстановление речевых функций [4, 6, 8, 35]. В целом препарат хорошо переносится. Среди побочных его эффектов зарегистрирована только кратковременная тошнота.

Первые позитивные результаты позволяют рекомендовать дальнейшее углубленное изучение репаративных и нейропротективных свойств препарата.

16.6. Аплегин

Отечественный препарат аплегин (карнитина хлорид) оказывает комплексное влияние на метаболизм и кровоснабжение мозга. Препарат восполняет запасы эндогенного карнитина в структурах мозга, что позволяет удовлетворить энергетические потребности нервной ткани в условиях гипоксии-ишемии, оказывает нормализующее влияние на процессы окисления жирных кислот, активного ионного транспорта, нейротрансмиссию, обмен белков и липидов. Аплегин снижает уровень анаэробного гликолиза и уменьшает выраженность лактат-ацидоза, достоверно тормозит ПОЛ, ингибирует цикл арахидоновой кислоты с уменьшением синтеза проагрегантных простагландинов. Увеличивая продукцию углекислоты, аплегин восполняет щелочной резерв крови, способствует восстановлению ауторегуляции церебральных сосудов и нормализации микроциркуляции в ишемизированной области мозга. Установлено также холиномиметическое действие препарата, что отражает его регенераторно-репаративные свойства [10, 12, 23].

Экспериментальные и клинические исследования доказали безопасность и хорошую переносимость аплегина. Побочных эффектов препарата и аллергических реакций на его введение не выявлено. Следует отметить лишь возможность появления местного раздражающего действия аплегина при длительных внутривенных вливаниях, которое регрессирует при большем разведении препарата (70—100 мл растворителя на каждый 1 мл препарата).

Исследование эффективности аплегина в остром периоде каротидного ишемического инсульта показало, что его введение в суточной дозе 7—15 мг/кг (1 мл препарата содержит 100 мг карнитина хлорида) на протяжении первых 7—10 дней заболевания существенно улучшает клиническое течение и исход инсульта. Препарат оказывает «пробуждающий» эффект у тяжелобольных, ускоряет регресс очаговых неврологических симптомов и нарушений психических функций [12, 23]. Как и в исследованиях цитиколина, положительное влияние аплегина проявлялось даже в позднем его назначении (со 2—3-го дня заболевания), что подтверждает не столько нейропротективное, сколько регенераторно-репаративное действие препарата. Наиболее полное восстановление нарушенных неврологических функций отмечалось при использовании аплегина в первые 24 ч после развития инсульта.

Многообещающие результаты пилотного клинического испытания аплегина создают предпосылки для организации рандомизированных плацебо-контролируемых исследований препарата при острой фокальной ишемии мозга.

В последнее время в эксперименте интенсивно изучаются регенераторно-репаративные свойства и другие потенциальных терапевтических средств: амфетаминов, ростовых факторов, которые в условиях острой ишемии мозга значительно стимулируют рост и ветвление отростков нейронов и синаптогенез, что проявляется улучшением восстановления поведенческих функций и памяти.

Таким образом, обзор препаратов, улучшающих регенераторно-репаративные свойства ткани мозга, свидетельствует о расширении их спектра за счет новых средств, принадлежащих к разным фармакологическим группам. Влияние этих препаратов направлено в основном на компенсацию уже сформированного морфофункционального дефекта и поэтому не требует жесткого временного «окна» для начала терапии, что является существенным отличием от условий проведения нейропротекции. Вместе с тем многие из средств репарации параллельно тормозят развитие ишемического процесса, т.е. выполняют и протективные функции. Это объясняет предпочтительность назначения их в первые часы заболевания.

Внедрение потенциальных репаративных препаратов происходит быстрее, чем потенциальных нейропротекторов, что связано с большей их безопасностью и отчасти — с менее жесткими требованиями к оценке их эффективности. Вместе с тем для объективного суждения о целесообразности применения репаративных средств требуются такие же мультицентровые рандомизированные плацебо-контролируемые испытания, охватывающие большие популяции больных, как и при испытании нейропротекторов.

Литература

1. Аюбян В.П., Бадалян Л.С. Журн фармакол и токсикол 1987; 1: 38—41.
2. Алтуняна М.Н., Лебедева Н.В. и др. Лечение больных с ишемическим нарушением мозгового кровообращения новым отечественным препаратом пикамилон (клинико-лабораторные данные). — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 161—164.
3. Александрин В.В., Александров П.Н. и др. Цереброваскулярные эффекты пикамилона. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 154.
4. Антанов И.П. Эффективность применения препарата глутилин у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения в раннем восстановительном периоде. — СПб: Тетра Медика, 1998; 36—44.
5. Бендикова Э.А., Конелевич В.М., Шмуйлович Л.М. и др. Пикамилон — новое ноотропное средство с центральным ГАМК-ергическим механизмом действия на вазомоторную регуляцию. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 31—39.
6. Базаунов О.А. Эффективность глутилина в системе реабилитационных мероприятий у постинсультных больных с мнестико-интеллектуальными нарушениями. — В кн.: Сосудистая патология нервной системы. — СПб, 1998; 173—174.
7. Буркина С.Б. Метаболическая терапия пирацетамом в остром периоде ишемического инсульта. Дисс. канд мед. наук. — М., 1987.
8. Вознюк И.А., Одинак М.М., Кузнецов А.Н. Применение глутилина у больных с острым нарушением мозгового кровообращения. — В кн.: Сосудистая патология нервной системы. — СПб, 1998; 167—172.
9. Воронина Т.А. Экспериментальные подходы к изучению нарушений функций ЦНС при старении и изыскание средств их фармакологической коррекции. — В кн.: Тезисы 5-го Всесоюзного съезда геронтологов и гериатров. — Киев, 1988; 4 (1): 130—131.
10. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга. Актовая речь. — М., 1992.
11. Гусев Е.И., Бурд Г.С., Гехт А.П. и др. Журн невропатол и психиатрии 1997; 10: 24—28.
12. Гусев Е.И., Кузин В.М., Колесникова Т.И. и др. Карнитин — ведущий фактор регенерации нервной ткани. Мед. и фарм. вестник 1999 (февраль): 11—23.
13. Дорофеев Б.Ф. Некоторые фармакологические показатели нейротропного действия пикамилона. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 103—113.
14. Зинченко В.А. К вопросу применения пикамилона в комплексной терапии острых и хронических нарушений мозгового кровообращения. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 165—169.
15. Зинченко В.А., Пальчиков В.Д., Сытинский И.А. Врачебное дело 1985; 1: 85—86.
16. Ивашина М.Н., Петров В.И., Щербакова Т.Н. Журн фармакол и токсикол 1984; 6: 40—43.
17. Ковалев Г.В. Фармакология и клиническое применение нейровоскислотных аминокислот и их аналогов. — В кн.: Труды Волгоградского мед института. — Волгоград, 1985; 37 (5): 295.
18. Ковалев Г.В. Ноотропные средства. — Волгоград, 1990; 368.
19. Ковалев Г.В., Лиходеева В.А. Влияние ГАМК, натрий-оксипропионата и пикамилона на физическую работоспособность и процессы ее восстановления. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 104—108.
20. Ковалев Г.В., Петров В.И., Эрдни-Горичева Н.М. ГАМК — модулятор в симпатической нервной системе. — В кн.: Материалы 5-й Всесоюзной конфер по физиологии вегетативной нервной системы. — Ереван, 1982; 167.
21. Ковалев М.А. Хим-фарм журн 1990; 7: 117—122.

22. Кресюн В.И., Борисюк Б.Б., Аксельрод Л.Б. и др. Церебральные и экстрацеребральные эффекты ноотропных средств. — В кн.: Тезисы 6-го Всесоюзного съезда фармакологов. — Ташкент, 1988; 198.
23. Кузин В.М., Колесникова Т.И. Мед-фарм вестник 1996; 1: 17—20.
24. Лебедева Н.В., Лунев Д.К., Зарецкая И.Х. и др. Лечение пирацетамом больных с различными формами сосудистых заболеваний мозга. — В кн.: Место препарата ноотропида в неврологической и психиатрической практике. — М., 1978; 25—30.
25. Музыченко Л.П., Кругликова-Львова Р.П. Результаты клинического изучения препарата пикамилон. — В кн.: Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат. — М., 1989; 155.
26. Новиков В.И., Ковалева Л.А. Эксп клин фармакол 1997; 60 (1): 59—61.
27. Островская Р.У. Нейрофармакологическая характеристика нового ноотропа: обзор литературы. — Л., 1982; 101—113.
28. Островская Р.У., Трофимов С.С., Цыбина Н.М. и др. Бюлл эксп биол и мед 1985; 3: 311—313.
29. Роевский К.С., Георгиев В.П. Медикаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты. — М., 1986; 240.
30. Розанов В.А. Анестезиол и реаниматол 1989; 2: 68—78.
31. Розанов В.А., Рейтарова Т.Е. Укр биохим журн 1989; 61 (1): 47.
32. Селезнева Н.Д., Колыхалов И.В., Герасимов Н.П. и др. Срд и клин психиатр 1998; 8 (4): 93—100.
33. Скворцова В.И. Клинический и нейрофизиологический мониторинг, метаболическая терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта: Дисс. д-ра мед. наук. — М., 1993.
34. Шток В.Н. Лекарственные средства в ангионеврологии. — М., 1984; 308.
35. Янишевский С.Н., Одинак М.М., Вознюк И.А., Овчинников С. Клиническая и морфологическая оценка эффективности препаратов с метаболической активностью при острой церебральной ишемии. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 364—365.
36. Alvarez J.A. et al. Methods Find Exp Clin Pharmacol 1997; 19: 201—210.
37. Aronowski J., Strong R., Grotta J.C. Neuro Res 1996; 18: 570—574.
38. Ban T.A., Pantarusa R.M., Boya S. et al. Neuro Trends of Clinical Neuropharmacology 1991; 5: 1—35.
39. Bielenberg G.W., Hawn C., Aylward J. Biochem Pharmacol 1986; 35 (15): 2693—2702.
40. Clark W.M., Williams B.J., Selinger K.A. Stroke 1999; 30: 2592—2597.
41. Clark W.M., Warach S.J., Selinger L.C. et al. Neurology 1997; 49: 671—678.
42. Coq J.O., Xerri C. Eur J Neurosci 1999; 11: 2597—608.
43. De Deyn P.P. Eur J Neurol 1995; 2: 7.
44. De Deyn P.P. Piracetam Symposium. Venice 1996; 18.
45. De Deyn P.P., De Reuck J., Leberdt W. et al. Stroke 1997; 28: 2347—2352.
46. De Deyn P.P., De Reuck J., Orgogozo J.M. et al. Cerebrovasc Dis 1996; 384.
47. Devuyck G., Bogousslavsky J. J Neurol Neurosurg Psychiatr 1999; 67: 419—427.
48. Enbergh P., Broeckx J., Haspers W. et al. Clin Neuropharmacology 1994; 17 (4): 320—331.
49. Encephalol. Bombay 1978.
50. Fallbrook A., Tizabi S.D., Mamali N. et al. Brain Res 1999; 10: 207—210.
51. Fisher H.D., Wustmann Ch., Rudolph E. Z. Klin Med 1987; 42 (12): 1077—1080.
52. Gammans R.E., Sherman D.G. Stroke 2000; 31: 278.
53. Gobert J.G. Nootropil in neurological and psychiatric practice. Belgium 1978; 3—5.
54. Grammate Th., Wustmann Ch. et al. Biomed Biochem Acta 1986; 45 (8): 1075—1082.
55. Hartmann H., Cosen S.A., Muller W.E. Neuropharmacology 1993; 32 (2): 119—125.
56. Heiss W.D., Hebold I., Klinkhammer P. J Cereb Blood Flow Metab 1988; 8 613—617.
57. Heiss W.D., Ilsen H.W., Wagner R. et al. Remote functional depression of glucose metabolism in stroke and its alteration by activating drugs. In: Positron Emission Tomography of the Brain (Heiss W.D., Phelps M.E. eds.). Berlin—Heidelberg—New York, Springer 1983; 162—168.
58. Heiss W.D., Kessler J., Mielke R. et al. Dementia 1994; 59 (2): 88—98.
59. Herrschaft H. Med Klin 1988; 83: 667—577.

60. Kartin P., Povse M., Skondla V. *Acta Therap* 1979; 5: 235—243.
61. Khaselev N., Murphy R.C. *J Lipid Res* 2000; 41 (4): 564—572.
62. Lopez C.M., Govoni S., Battaini F. *et al. Pharmacol Biochem Behav* 1991; 39 (4): 835—840.
63. Muller W.E., Hartmann H., Koch S. *et al. International Academy for Biomed and Drug research* 1994; 7: 166—173.
64. Onal M.Z., Fisher M. *Drugs of Today* 1996; 32 (7): 573—592.
65. Otomo E., Araki G., Mori A., Kurihara M. *//Arzneimittelforschung* 1981; 31: 9: 1511—1523.
66. Pede I.P., Schimpfesse L., Crokett R. *Farm Tijdschr* 1973; 50 (4): 298—306.
67. Platt D., Horn J., Summa J.D. *et al. Die Med Welt* 1992; 43 (2): 181—190.
68. Poeck K., Huber W., Hortacher R. *Collegium internationale neuropsychopharmacologia. Capri* 1993.
69. Schabitz W.R., Weber J., Takano K. *et al. J Neurol Sci* 1996; 138: 21—25.
70. Splers P.A., Myers D., Hochanadel G.S. *et al. Arch Neurol* 1996; 53: 441—448.
71. Stockmans F. *et al. Thrombosis and Haemostasis* 1991: 1179.
72. Tazaki Y., Omae T., Kuromaru S. *et al. J Int Med Res* 1980; 8 (2): 118—126.
73. Tazaki Y. *et al. Stroke* 1988; 19: 211—216.
74. Taleando A., Bentura M.L. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1994; 7 (3): 95—209.
75. von Wild K., Simons H., Schoeppner H. *//Pharmacopsychiatr* 1992; 25: 15—55.
76. Wahlgren N.G. A review of earlier clinical studies on neuroprotective agents and current approaches. In: *Neuroprotective agents and cerebral ischemia* (Green R., Cross A.J. eds.). San Diego, London, Boston etc. Academic Press 1997; 177—203.
77. Weiss G.B. *Life Sci* 1995; 56: 637—660.

Глава 17

Стратегии и перспективы развития нейропротективной терапии при ишемии головного мозга

Произошедшее за последние годы развитие наших представлений о молекулярных механизмах регуляции деятельности мозга, о процессах, лежащих в основе повреждения и смерти клеток, а также о регенерации и пластичности нервной ткани, создало основу для совершенствования методов нейропротекции.

Анализируя состояние проблемы на сегодняшний день, следует отметить прежде всего рост интереса к научному и практическому поиску средств защиты мозга. Огромное число экспериментальных и клинических исследований, более 30 международных мультицентровых исследований посвящено апробации разнообразных нейропротекторов. Обилие полученной информации позволяет подытожить первые результаты и сделать некоторые выводы.

Проведенные исследования ясно показали, что невозможно напрямую переносить экспериментальные данные о нейропротективной эффективности препаратов в условия клиники. Не только культуральные исследования, но и экспериментальные модели ишемического инсульта у животных не позволяют в полной мере подражать эффектам препаратов у человека. Так, оказалось, что на моделях, действенные на моделях острой фокальной ишемии антагонисты глутаматных рецепторов не применимы в клинике из-за широкого спектра тяжелых побочных явлений. Выраженность защитного действия многих нейропротекторов при экспериментальном инсульте и естественном развитии заболевания у человека также значительно варьирует. Можно предположить, что выявленные различия связаны не только с различным уровнем функционирования головного мозга у человека по сравнению с животными, но и с целым комплексом дополнительных факторов: развитием инсульта в естественных условиях, как правило, на фоне уже сформированной сосудистой энцефалопатии с признаками хронической ишемизации церебральной ткани; гетерогенным (по этиологии и механизмам возникновения) характером заболевания; затруднениями начала терапии в пределах 2—3-часового временного окна в клинических условиях. Данный анализ позволяет внести коррективы в дальнейшие исследования. С одной стороны, очевидно необходимость разработки новых экспериментальных моделей инсульта, в которых за определенный период времени до индукции фокальной ишемии мозга животным будет воссоздаваться гипертоническая или гиперлипидемическая энцефалопатия, а также будут варьировать способы прекращения подачи крови в мозг; а с другой — переноса опыта экспериментов в клинику, нужно принимать во внимание бесперспективность назначения нейропротекторов позже окончания 1-х суток инсульта.

Как и любой многообещающий научный поиск, разработка нейропротективных средств сопровождалась периодами разочарований у исследователей, связанными с обоснованием тупиковых путей решения проблемы и доказательствами ограниченных клинических возможностей считавшихся перспективными препаратов. Однако поиски увенчались успехом, и в настоящее время мы имеем достоверные данные об эффективности нескольких первичных и вторичных нейропротекторов, относящихся к разным фармакологическим группам. Среди них:

• **первичные нейропротекторы:**

- неконкурентные антагонисты глутаматных *NMDA* рецепторов *магнезия и ремачемид*;
- селективный блокатор глицинового сайта *NMDA* рецепторов *GV-150526A*;
- ингибитор пресинаптического высвобождения глутамата и глутамат-индуцированной *NO*-токсичности *лубелузол*;
- активаторы тормозной нейротрансмиссии *кламептазол* и *глицин*;

• **вторичные нейропротекторы:**

- блокатор синтеза *NO* *эбселек*;
- основной фактор роста фибробластов *bFGF*;
- нейропептиды *семакс (АКТГ 4-10)* и *церебролизин*.

Положительные эффекты этих препаратов при остром ишемическом инсульте значительно варьируют между собой, но в целом нацелены на снижение 30-дневной летальности, ускорение регресса очаговых неврологических нарушений и улучшение восстановления утраченных функций. Установлена прямая зависимость их эффективности от сроков начала терапии и ее длительности. Действие первичных нейропротекторов наиболее эффективно при их назначении в 1—4-часовом интервале после развития инсульта (не позднее 6 ч) и лечении, продолжающемся в течение 5 дней. Эффекты вторичных нейропротекторов наиболее выражены при их назначении в 6—12-часовом интервале (длительно в первые 6 ч) и длительности терапии не менее 7—10 дней. В настоящее время продолжаются мультицентровые международные исследования, целью которых является подтверждение предварительных данных о благоприятном влиянии перечисленных препаратов на исход инсульта.

Установлена тесная взаимосвязь между механизмами вторичной нейропротекции и регуляторами репаративных процессов в ткани мозга, что свидетельствует о возможности проникновения методов нейропротективной и репаративной терапии. Было показано, что многие вторичные нейропротекторы (факторы роста, компоненты рецепторов, противовоспалительные цитокины, нейропептиды) обладают мощными репаративными свойствами. В то же время препараты, условно отнесенные в группу репаративной терапии, оказывают и нейропротективное действие. Однако в отличие от «истинных» нейропротекторов действие большинства известных препаратов с преобладающими репаративными свойствами не столь радикально, характеризуется широким спектром эффектов на метаболизм и кровоснабжение мозга, преимущественно направлено на регресс очаговых неврологических нарушений, причем наиболее эффективно — при средней тяжести инсульта, ограниченных размерах очага ишемии, отсутствии в клинической картине общемозговых проявлений и признаков отека мозга. Существенным отличием является также тот факт, что лечение средствами репарации может быть начато вне временных рамок формирования инфаркта мозга и

эффективно даже при первом введении препаратов спустя 24 ч с момента развития инсульта.

Несмотря на первые успехи в разработке нейропротективного направления терапии инсульта, на сегодняшний день проблема остается нерешенной.

Важным аспектом развития нейропротекции является более дифференцированное ее применение в зависимости от множества факторов, в том числе длительности дореперфузионного периода, глубины и протяженности ишемии, локализации очага поражения мозга и т.д. В настоящее время известно, что ряд нейропротекторов эффективен лишь при временном характере фокальной ишемии (*тирилазад* и другие «ловушки» свободных радикалов, антитела к молекулам межклеточной адгезии), тогда как другие оказывают защитное воздействие и при стабильной окклюзии артерии мозга с ограниченными возможностями коллатерального кровообращения (ингибитор синтеза оксида азота *эбселен*). Установлено, что нейропротективные препараты, реализующие свои эффекты через модуляцию рецепторов и синапсов (*ганглиозиды*), могут «не работать» при поражении белого вещества мозга. В связи с тем что глутаматные *NMDA* рецепторы практически отсутствуют в белом веществе, понятна необходимость применения их антагонистов при такой локализации ишемического очага. Доказано, что глубина и протяженность ишемии, коррелируемые выраженностью перифокального отека и микроциркуляторных нарушений, определяют тяжесть клинических проявлений инсульта и выбор нейропротектора. Если при ограниченной корковой ишемии может быть достаточно назначения препарата с преимущественно регенераторно-паративными свойствами, то при субтотальной ишемии полушария необходимо использование наиболее радикальных нейропротекторов. Приведенные данные позволяют сделать вывод об ограниченности тех типовых испытаний, которые недифференцированно оценивают эффект препаратов в общей популяции больных с инсультом. Безусловно, требуется детальный субгрупповой анализ для решения вопроса о целесообразности назначения того или иного нейропротектора.

Требуется также дополнительное изучение влияния «фоновой» терапии на эффективность нейропротекторов. Описано модулирующее действие стероидов, бензодиазепинов, трибуратов короткого действия, некоторых гипотензивных препаратов на механизмы нейропротекции.

Интересным вопросом является влияние температурного режима на темпы восстановления процессов. Так, ряд авторов [7, 9, 15, 21] выявили связь между уровнем гипертермии в первые часы инсульта с ухудшением прогноза заболевания. В экспериментальных исследованиях была показана нейропротективная значимость терапевтической гипотермии [11], и в настоящее время некоторыми исследователями обсуждается возможность проведения рандомизированных клинических испытаний гипотермии у больных с ишемическим инсультом. В то же время исследования M.D. Ginsberg и R. Busto [12] продемонстрировали преимущества поддержания температуры тела в обычных нормотермических пределах ($36,7-37,0^{\circ}\text{C}$) в течение первых дней заболевания. Более того, клиническими наблюдениями S. Schwab с соавт. [21] установлено, что умеренная гипертермия (до $38,0^{\circ}\text{C}$) в течение 48–72 ч с момента развития инсульта благоприятна при тяжелом течении заболевания, так как помогает корректировать повышенное внутричерепное давление и выраженность отека мозга и тем самым улучшает клинический исход инсульта без каких-либо серьезных побочных эффектов. Таким образом, еще предстоит разработать и обо-

снова оптимальный температурный режим для больных с острой ишемией мозга.

Особый интерес представляет изучение комбинированного применения нейропротекторов с разными механизмами действия. Учитывая многообразие реакций, приводящих к формированию инфаркта мозга на фоне фокальной ишемии, можно предположить, что одномоментное воздействие на разные звенья ишемического каскада позволит синергично усилить нейропротективный эффект, а кроме того, снизить дозы нейропротекторов, т.е. уменьшить риск нежелательных побочных явлений. Экспериментальные исследования М. Ginsberg с соавт. [13], D. Uematsu с соавт. [23] показали, что двойная блокада потенциал-зависимых и агонист-зависимых кальциевых каналов с помощью комбинированного использования умеренных доз неконкурентного антагониста *NMDA* рецепторов *МК-801* и производного дигидропиридина — *нимодипина* обеспечивает достоверно более эффективную защиту ткани мозга при острой фокальной ишемии, чем каждый из препаратов: уменьшает размеры инфаркта более чем на 80 % и полностью предотвращает нарастание концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} . Установлено также, что комбинированное применение низких доз цитиколина с *МК-801* [19] или с основным фактором роста аstroyбластов [20] достоверно ограничивает размеры инфарктной зоны в мозге после фокальной ишемии, в то время как аналогичные дозы каждого из препаратов неэффективны. Принимая во внимание различия терапевтических мишеней для первичных и вторичных нейропротекторов, одновременно с этим соприкосновение механизмов их действия через единую систему сигнальной трансдукции (вторичные мессенджеры, рецепторы, ионные каналы, цитокины, нейротрансммиттеры), представляется перспективным сочетанное использование в остром периоде ишемического инсульта представителей обеих групп. По-видимому, разработка наиболее эффективных комбинаций нейропротекторов будет одной из задач ближайшего будущего.

Перспективы развития нейротрофики при инсульте связаны и с поиском новых терапевтических стратегий, основанных на последних достижениях базисных нейронаук. Экспериментальные данные об эффективности при острой фокальной ишемии блокаторов цинк-опосредованной нейротоксичности, антагонистов провоспалительных цитокинов, индукторов противовоспалительных и нейротрофических факторов позволяют надеяться на возможность их клинического применения в будущем. Расшифровка молекулярных механизмов ишемических каскадных реакций создает предпосылки для использования регуляторных пептидов, модуляторов активности рецепторов и ионных каналов, микроэлементов в создании новых эффективных средств защиты. Особое внимание уделяется разработке методов, позволяющих генетическую программу апоптоза, т.е. синтезу методами рекомбинации ДНК стабильных аналогов эндогенных нейротрофинов и молекулярных эффекторов, «выключающих» механизмы «программированной» клеточной смерти; созданию генетически модифицированных клеток, усиленно продуцирующих нейротрофические факторы. В последние годы на доклиническом уровне начато внедрение методов «генной терапии», основанных на введении в организм животных генов-корректоров с помощью специальных вирусных носителей (векторов). Результаты введения антагонистов генов каспаз — главных индукторов апоптоза [8]; генов, кодирующих переносчики глюкозы [16], свидетельствуют о достоверном снижении у экспериментальных животных размеров инфаркта мозга (в среднем на 50 %). Безусловно, вторжение научных исследований в

мир наиболее сокровенных и сложных молекулярных и генетических процессов требует особой осторожности и взвешенности выводов. Необходимо тщательное, длительное теоретическое и экспериментальное изучение данных методов перед принятием решения о возможности их клинического испытания.

Положительные эффекты нейропротекции лишь подчеркивают значимость и приоритетность реперфузионной терапии ишемического инсульта, направленной на устранение первопричины, вызвавшей ишемию, и во многом определяющей исход заболевания. Совершенствование методов реперфузии привело к важному результату — разработке и внедрению эффективных средств тромболизиса. Однако существуют препятствия к их применению, среди которых наиболее значимое — узкое «терапевтическое окно» (см. главу 13). Комбинированное использование тромболитиков и нейропротекторов позволяет расширить «терапевтическое окно», усилить тромболитический эффект терапии, а также достоверно уменьшить выраженность дополнительного реперфузионного повреждения ткани мозга. Получены первые положительные результаты от сочетанного использования *рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rt-PA)* с ингибитором *тирилазадом* [18], антагонистом глутаматных *NMDA* рецепторов *NBQX* [17], антагонистом глутаматных *NMDA* рецепторов *МГ-80* [24], *цитиколином* [5]. По мнению М. Fisher и J. Bogousslavsky [10], комбинированное применение в первые часы инсульта *rt-PA* и нейропротекторов: антагонистов глутаматных рецепторов и «ловушек» свободных радикалов, а затем факторов роста и цитиколина — является самым перспективным подходом к терапии ишемического инсульта в будущем. Однако требуется большое число экспериментальных исследований перед внедрением комбинированной терапии в клиническую практику.

Клинико-экспериментальные исследования последних лет [1–5, 14] уточнили значимость процессов утомления и демиелинизации в развитии диффузных деструктивных процессов в мозге на фоне его хронической ишемизации (формирование энцефалопатии). Чрезмерная подготовка церебральную ткань к развитию инфарктных изменений при остром снижении мозгового кровотока (см. главу 9). Наши клинические наблюдения доказали возможность управления процессами адаптации и образования к нейроспецифическим белкам мозга с помощью нейропротективной терапии. Курсовое применение *глицина* оказалось эффективным как для уменьшения выраженности клинических проявлений энцефалопатии, так и для профилактики инфарктных изменений, торможения механизмов, «запускающих» повреждение ткани мозга и повышающих его чувствительность к ишемии. Таким образом, нейропротекция может применяться не только для борьбы с повреждающим действием острой ишемии при инсульте, но и как средство превентивной терапии. Огромная медико-социальная значимость проблемы профилактики инсульта требует развития наряду с методами сосудистой коррекции комплекса мер профилактической нейропротекции.

Литература

1. Ефремова Н.М., Скворцова В.И., Грудень М.А. и др. Изучение содержания белка S100 β и первичных и вторичных антител к нему у больных с острой церебральной ишемией в зависимости от патогенетических вариантов инсульта. — В кн: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 294.

2. Сковорова В.И., Грудень М.А., Стаховская Л.В. и др. Структурные нейроспецифические белки (S100β и основной белок миелина) и аутоантитела к ним как маркеры нейрониммунопатологических реакций при ишемической болезни головного мозга. — В кн.: Новые технологии в неврологии и нейрохирургии на рубеже тысячелетий. — Ступино, 1999; 180—181.
3. Сковорова В.И., Кляшник Т.П., Стаховская Л.В. и др. Изучение аутоантител к фактору роста нервов у больных с острой и хронической ишемией головного мозга. — В кн.: Новые технологии в неврологии и нейрохирургии на рубеже тысячелетий. — Ступино, 1999; 181—182.
4. Сковорова В.И., Масовдов Н.Ф., Кляшник Т.П. и др. Изучение содержания фактора роста нервов и антител к нему у больных с острой церебральной ишемией. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 332—333.
5. Хаджисева М.Х., Сковорова В.И., Шерстнев В.В. и др. Изучение нейротрофических факторов и аутоантител к ним у больных с хронической ишемией головного мозга. — В кн.: Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб, 2000; 341.
6. Anderson M., Meden P., Overgaard K. et al. Stroke 1999; 30: 1464—1467.
7. Azzimondi G., Bassein L., Nolino F. et al. Stroke 1995; 26: 2040—2043.
8. Betz A.L., Yang G.Y., Davidson B.L. J Cereb Blood Flow Metab 1995; 15: 541—551.
9. Castillo J., Martinez F., Liera R. et al. Cerebrovasc Dis 1997; 12: 1—7.
10. Fisher M., Bogousslavsky J. JAMA 1998; 279: 1298—1303.
11. Ginsberg M.D. Reviews 1990; 2: 68—93.
12. Ginsberg M.D., Busto R. Stroke 1998; 29: 529—534.
13. Ginsberg M.D., Globus M. V.T., Busto R. et al. The potential of combination pharmacotherapy in cerebral ischemia. In: Pharmacol Cerebral Ischemia. 1990; 499—510.
14. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Dambinova S.A. et al. Cerebrovasc Dis 2000; 10: 49—60.
15. Hindfelt B. Acta Neurol Scand 1976; 53: 72—77.
16. Lawrence M.S., Sun G.H., Kuntz D.M. et al. Cereb Blood Flow Metab 1996; 16: 181—185.
17. Meden P., Overgaard K., Seraghi T., Buysen G. Neurol Sci 1993; 119: 209—216.
18. Meden P., Overgaard K., Pedersen J., Buysen G. Cerebrovasc Dis 1996; 6: 141—148.
19. Onal M.Z., Li F., Tatlisumak T. et al. Stroke 1997; 28: 1060—1065.
20. Schabitz W.R., Li F., Irie K. et al. Stroke 1999; 30: 427—432.
21. Schwab S., Schwarz S., Sprueh M. et al. Stroke 1998; 29: 2461—2466.
22. Skvortsova V.I., Gusev E.I., Shernyev V.V. et al. Cerebrovasc Dis 2000; 12 (3).
23. Uematsu D., Araki N., Grossberg J.J. et al. Neurology 1991; 41 (1): 88—94.
24. Zivin J.A., Mazzarello P. Acta Neurol 1991; 48: 1235—1240.

Заключение

Итак, проблема острой и хронической ишемии мозга сохраняет чрезвычайную медицинскую и социальную значимость. Хроническая ишемизация мозга, являющаяся следствием атеротромбогенеза и других наследственно запрограммированных сосудистых патологических процессов, формируется у лиц работоспособного возраста, а в старших возрастных группах получает тотальное распространение. Приводя к развитию энцефалопатии, хроническая ишемия вызывает широкий спектр субъективных и объективных неврологических нарушений, ограничивающих интеллектуально-мнестические функции человека и его физические возможности и значительно ухудшающих качество жизни. Прогредивное и прогрессирующее повреждение мозга лежит в основе его старения, а кроме того, подталкивает церебральную ткань к возможности развития крупного инфаркта в ответ на острое нарушение мозгового кровообращения и острую фокальную ишемию. Ишемический инсульт, частота которого приобрела тенденцию к увеличению в последние годы, сохраняет в структуре смертности и остается главной причиной инвалидности населения.

Таким образом, процесс ишемизации мозга во многом определяет уровень здоровья и длительность жизни населения, особенно пагубно сказываясь на них при остром его развитии. Именно поэтому так велика значимость сделанных в последние годы открытий, касающихся основных механизмов повреждающего действия ишемии на ткань мозга и возможностей корригирующего влияния на них. Получение качественно новых знаний позволило надломить доминирувавшие к 90-м годам пессимизм и обреченность по отношению к проблеме ишемического инсульта. Углубление представлений о его патогенезе, определение алгоритма временной развертки ишемических последовательных реакций в ткани головного мозга создали основу для совершенствования организации медицинской помощи больным с острыми нарушениями мозгового кровообращения, пересмотра терапевтических стратегий, формирования нового направления терапии — нейротектики. Наряду с этим ишемический процесс явился наиболее универсальной моделью для решения важных теоретических задач неврологии. Изучение его развития значительно продвинуло вперед понимание молекулярных механизмов функционирования нейронов и клеток глии, отдельных структур и всего мозга в целом, а также единой нейроиммунноэндокринной системы, объединенной сетью сигнальной трансдукции, позволяющей реализовать общий ответ на повреждающее воздействие с включением собственных защитных средств организма.

Современные представления о механизмах церебральной ишемии и основных стратегиях нейротективной терапии свидетельствуют о том, что дальнейшее развитие клинической неврологии возможно лишь в тесном сотрудничестве с фундаментальными нейронауками: молекулярной генетикой, молекулярной биологией, нейрохимией, нейрофизиологией, нейрофармакологией и др. Совместное проведение клинико-экспериментальных

исследований и использование их результатов в клинике уже сегодня приносили ощутимые результаты. Так, внедрение новых методов нейропротекции в каждодневную практику неврологических клиник Российского государственного медицинского университета позволило снизить 30-дневную летальность при ишемическом инсульте с 26—29 до 9—12 % за 10 лет. Повышение выживаемости больных при тяжелых формах инсульта сопровождалось значительным улучшением восстановления нарушенных неврологических функций.

Понимание механизмов влияния ишемии на мозг обусловило применение методов нейропротекции не только в лечебных, но и в профилактических целях — у больных с хронической ишемической болезнью мозга для предотвращения крупноочаговых инфарктных изменений в церебральной ткани на фоне гемодинамических колебаний.

Проблема острой и хронической ишемии мозга настолько сложна, что ее решением будет заниматься не одно грядущее поколение. Однако опыт, накопленный в научных работах последних десятилетий, и перспективы развития проблемы позволяют с оптимизмом смотреть в будущее и ожидать новых открытий в третьем тысячелетии.

Монография

Евгений Иванович Гусев,
Вероника Игоревна Скворцова

ИШЕМИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Зав. редакцией *Т.Н. Осокина*
Редакторы: *М.Г. Фомина, Н.В. Кирсанова,*
Л.В. Левушкина, Г.А. Рыжова
Художественный редактор *О.А. Четверикова*
Компьютерная графика *И.А. Платонова*
Технический редактор *Н.В. Сорокина*
Корректор *Л.П. Тарарина*

ЛР № 010215 от 29.04.97. Сдано в набор 1.01.2001.
Подписано к печати 16.02.2001. Формат бумаги 70×100^{1/8}.
Бумага офсетная № 1. Гарнитура Т¹мс. Печать офсетная.
Усл.печ.л. 26,65. Усл.кр.-отг. 3,1. Уд. изд.л. 27,42.
Тираж 3 000 экз. Заказ № 512.

Орден Трудовой Красной Звезды издательство «Медицина».
101000, Москва, Петровско-Ватутинский пер., 6/8.

Отпечатано с цвето- и графических диапозитивов
в типографии О.Ю. «Внешторгиздат».
125071, Москва, ул. Ильинская, 7.

