

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ МОЗГА И МЕТАЛЛО-ЛИГАНДНЫЙ ГОМЕОСТАЗ В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Л.Л. Клименко^{1}, А.В. Скальный², А.А. Турна³,
М.С. Савостина⁴, А.Н. Мазилина⁴,
И.С. Баскаков¹, М.Н. Буданова¹*

¹ Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² АНО Центр биотической медицины, Москва

³ Институт повышения квалификации ФМБА России, Москва

⁴ КБ № 123 ФМБА России, Москва

РЕЗЮМЕ. В клинических условиях проведено комплексное многофакторное исследование этиопатогенеза ишемического инсульта. У пациентов с диагнозом ишемический инсульт с помощью неинвазивного метода регистрации уровня постоянного потенциала головного мозга отмечена динамика церебрального энергообмена на разных этапах ишемического каскада. Одновременно методом эмиссионной спектроскопии установлена концентрация макро и микроэлементов в сыворотке крови пациентов и концентрация нейроспецифических белков S100, АТ к NR2 и VEGF методом иммуноферментного анализа. Методом дисперсионного анализа по Крускалу–Уоллису показано достоверное различие концентрации макро- и микроэлементов и нейроспецифических белков при разных значениях уровня постоянного потенциала. С помощью корреляционного анализа выявлены достоверные связи между показателями церебрального энергообмена, концентрацией макро- и микроэлементов и нейроспецифических белков, что свидетельствует о возможности использования этих показателей в качестве биомаркеров ишемии мозга с целью обеспечения максимальной сохранности мозговой ткани при дисциркуляторных расстройствах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемический инсульт, мозг, энергетический метаболизм мозга, уровень постоянного потенциала, макро- и микроэлементы.

ВВЕДЕНИЕ

Сосудистые заболевания головного мозга являются важнейшей медико-социальной проблемой как клинической неврологии, так и общей медицинской практики в целом. Хронические цереброваскулярные заболевания составляют 20–30% у лиц трудоспособного возраста (Naraf et al., 2002; Скворцова и др., 2005; Бакунц, 2011). Предполагается, что к 2050 г. число пациентов с инсультом возрастет на 50%. По данным ВОЗ, стремительные темпы роста количества заболеваний ишемическим инсультом в России и во всем мире позволяют говорить о пандемии инсульта (Скворцова и др., 2005). Цереброваскулярные заболевания – это многофакторный процесс, в формировании которого принимают участие физико-химические, молекулярные, биохимические, иммунные, эндокринные, энергетические механизмы (Naraf et al., 2002; Бакунц, 2011). Особое значение приобретают вопросы, связанные с многоступенчатыми ме-

ханизмами гомеостаза, обеспечивающими сопряженность кровоснабжения мозга с его энергетическим метаболизмом и функциональной активностью. Концепция сопряженности лежит в основе анализа механизмов формирования нарушения мозгового кровоснабжения, возникновения факторов – предвестников риска, сигнализирующих об этапе предболезни с нарастанием очага точечной патологии в ткани мозга, приводящей при углублении процесса к ишемическому инульту (Бакунц, 2011). Очевидная актуальность исследований сосудистых заболеваний головного мозга связана с невыясненностью различных сторон этиопатогенеза цереброваскулярных заболеваний.

Сохранность мозговой ткани при ишемических заболеваниях является основным критерием успеха при реабилитационных процедурах. Ишемия мозга ассоциируется с изменением церебрального энергетического метаболизма. Оценка энергетического метаболизма мозга базируется на анализе мозгового кровотока, электрических характеристик гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), а также метаболизма глюкозы и кислорода

* Адрес для переписки:

Клименко Людмила Леонидовна
E-mail: klimenkoll@mail.ru

(Lehmenkuler et al., 1999; Фокин, Пономарева, 2003; Leys et al., 2007). Степень повреждающего действия ишемии определяется, прежде всего, глубиной и длительностью снижения мозгового кровотока. Ишемический каскад характеризуется протеканием сложных и многоуровневых процессов, различные аспекты которых активируются в зависимости от времени от начала ишемии, выраженности снижения кровотока, общего метаболического пула (Magistretti et al., 1994; Pellerin et al., 1998; Pellerin, Magistretti, 2003; Wyss et al., 2011). Каждый этап ишемического каскада является потенциальной мишенью для терапевтических воздействий. Чем раньше прерывается каскад, тем больший эффект можно ожидать от терапии. Весь биохимический комплекс изменений, происходящий в ишемизированной ткани мозга, неизменно приводит к угнетению его энергетического метаболизма: энергетический дефицит и лактатацидоз являются триггерами каскада патобиохимических реакций, протекающих во всех основных клеточных пулах центральной нервной системы (ЦНС) и приводящих к формированию инфаркта мозга по двум основным механизмам: некроза и апоптоза (Loaiza et al., 2003; Kasischke et al., 2004; Wyss et al., 2011). При этом церебральный энергетический метаболизм является маркером – предвестником дисциркуляторных дисфункций и критерием сохранности мозговой ткани. Своевременное выявление начальных признаков расстройств церебральной гемодинамики с последующим проведением адекватной терапии на ранних стадиях дисциркуляторной дисфункции, оценка сохранности мозговой ткани и церебрального энергетического метаболизма являются основанием для успешности нейропротекторных терапевтических процедур.

Среди современных методов нейровизуализации и оценки церебрального энергетического метаболизма перспективным и безопасным является использование неинвазивного метода регистрации и анализа уровня постоянных потенциалов головного мозга (УПП, мВ), отражающего сосудистые потенциалы головного мозга, являющиеся показателем интенсивности церебрального энергетического метаболизма. В генерации этих потенциалов основную роль играет закисление экстраклеточного матрикса, возникающее при накоплении лактата. Согласно схеме метаболической кооперации между астроцитарной глией и нейронами, в глии происходит гликолиз, сопровождающийся высвобождением в экстраклеточный матрикс лактата, который используется нейронами для их энергетического обеспечения на основе окислительного фосфорилирования. Основной источник УПП – потенциалы ГЭБ, при этом потенциалобразующим ионом является ион водорода. Регистрируемые на коже головы потенциалы отражают интенсивность метаболических процессов тех или иных участков мозга и служат показателями их функциональной активности (Pulsinelli et al., 1993; Clarke, Sokoloff, 1994; Siesjo et al., 1995; Zhang,

Wong-Riley, 1999; Фокин, Пономарева, 1999). Биохимическая нейровизуализация, осуществляемая этим методом, позволяет оценивать степень нарушений при дисциркуляторной патологии, результаты нейропротекторной стратегии, а также дает возможность исследовать механизмы этиопатогенеза ишемических заболеваний.

Однако не только инструментальные, но и биохимические методики используются для оценки выраженности патологических процессов в головном мозге. Нарушение обмена микроэлементов является важным звеном в патогенезе ишемических заболеваний мозга. Оптимизация содержания микроэлементов становится перспективным средством уменьшения апоптоза, что открывает путь к созданию фармакотерапевтических подходов к лечению ишемических заболеваний. Микроэлементный дисбаланс может оказывать воздействие на фармакокинетику и фармакодинамику нейропротекторов, а также иметь самостоятельное нейропротекторное действие. Исследования последних лет доказывают, что макро- и микроэлементы – неотъемлемая часть нейротрофической системы мозга (Громова, Кудрин, 2001; Скальный, 2004; Скальный, Рудаков, 2004; Кудрин, Громова, 2006; Громова, 2007; Zangieva et al., 2013).

Известно, что низкая концентрация магния, обнаруженная в периферической крови, является фактором риска возникновения инсульта, т.е. маркером-предвестником. Магний входит в состав многочисленных ферментов нервной и глиальных тканей: глутаминсинтетазы, холинэстеразы и т.д. Низкий уровень магния – признанный фактор риска «финального тромбообразования» у больных с инсультом (Bhudia et al. 2006; Larsson et al., 2012).

Физиологическое поступление селена признано защитным фактором в борьбе с инсультом. Селен входит в состав глутатионпероксидазы (Se-GPX) – основного мембранного антиокислительного фермента. Таким образом, сниженная ферментативная активность Se-GPX – ранний маркер неблагоприятного исхода в обеспеченности мозга селеном и предвестник дисциркуляторных дисфункций (Голубкина и др., 2002; Mehta et al., 2012; Chan et al., 2012).

Как недостаток, так и избыток железа в нервной ткани приводит к усилению проокислительных процессов. Сниженный уровень железа и его повышенный уровень – предикторы усиления процессов свободнорадикального окисления в мозге. Глубокий дефицит железа вызывает нарушение продукции нейромедиаторов (серотонина, дофамина, норадреналина), миелина, приводит к развитию энергетического кризиса и может сочетаться с повышенным риском инсульта (Tuomainen et al., 1998; Im et al., 2012; Lipinski et al., 2012; Nagao et al., 2014).

Цинк защищает эндотелий сосудов при ишемии мозга, однако цинк, содержащийся в нейронах, является стимулятором апоптоза (Peczowska et al., 1997; Aras et al., 2009; McCranor et al., 2012; Zhao et al., 2014; Pivovarova et al., 2014). Такие

микроэлементы, как селен, хром, цинк, марганец, медь и другие сами являются антиоксидантами (Zangieva et al., 2013). Медь является кофактором антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы: Cu-Zn СОД (Plane et al., 1997; Tsimikas et al., 2012; Azizova et al., 2013; Baskin et al., 2014; Eom et al., 2014).

Итак, микроэлементы являются компонентом нейротрофической системы мозга и наравне с церебральным энергообменом могут служить маркерами сохранности мозговой ткани и задолго до клинического проявления сигнализировать об усилении патологического процесса в работе ЦНС.

Основные нейропротекторные стратегии направлены на восстановление и оптимизацию функционирования компонентов церебрального энергетического метаболизма: улучшение церебральной микроциркуляции, потребление кислорода и восстановление аэробного окисления глюкозы. Восстановление баланса макро- и микроэлементов является основанием для успешного проведения реабилитационных процедур при дисциркуляторных заболеваниях мозга.

Актуальным является вопрос предупреждения прогрессирования хронической недостаточности мозгового кровообращения, а также возникновения инсульта. Все это обуславливает необходимость проведения клинических исследований, основной целью которых является разработка и применение маркеров-предвестников нарастающей дисциркуляторной дисфункции, равно как и маркеров сохранности мозговой ткани при развитии цереброваскулярного заболевания. В этом качестве перспективным может оказаться комплексное исследование, в котором неинвазивно оценивается церебральный энергообмен одновременно с определением макро- и микроэлементного баланса в периферической крови.

Цель проекта — исследование церебрального энергетического метаболизма и макро- и микроэлементного баланса как физико-химических механизмов патогенеза и маркеров сохранности мозговой ткани при ишемических заболеваниях головного мозга, а также исследование динамики церебрального метаболизма и макро- и микроэлементного баланса как прогностических признаков течения заболевания, прогрессирования и исхода.

Задача исследования — проведение многофакторного анализа наиболее значимых с позиций этиопатогенеза ишемического инсульта параметров, установление количественной и качественной связей между ними с целью выяснения их информативности и прогностической значимости и осуществления мониторинга состояния и сохранности мозговой ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 96 пациентов (44 женщин и 51 мужчины), находящихся на стаци-

онарном лечении в неврологическом отделении КБ № 123 ФМБА России с диагнозом острое нарушение мозгового кровообращения. Средний возраст 61,3 года. Алгоритм исследования включал неинвазивное измерение уровня постоянного потенциала головного мозга, определение концентрации макро- и микроэлементов в сыворотке крови и определение концентрации нейроспецифических белков, характеризующих повреждение мозговой ткани при ишемическом инсульте. К последним относятся: нейроспецифический белок S100 — в ранней фазе церебрального инфаркта он является ответом мозговой ткани на ишемию; аутоантитела к NR2A — подтипу NMDA глутаматного рецептора, играющего центральную роль в процессах эксайтотоксичности; эндотелиальный фактор роста сосудов VEGF (vascular endothelial growth factor), ответственный за поступление кислорода к ишемизированной ткани мозга.

Измерение УПП осуществляли неинвазивно от кожи головы с помощью электрометрического усилителя «Нейроэнергокартограф» с входным сопротивлением 10^{14} Ом, в котором используются методы анализа и топографического картирования УПП. Для регистрации использовали неполяризуемые хлорсеребряные электроды с сопротивлением 30 кОм. Регистрировали УПП в пяти точках: лобной (F), центральной (C), затылочной (O), правой (Td) и левой (Ts) височных.

Концентрацию макро- и микроэлементов определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргонной плазмой на атомно-эмиссионном спектрометре Optima 2000 DV (Perkin Elmer, США). Была определена концентрация следующих 25 макро- и микроэлементов в сыворотке крови (мкг/мл): Al, Co, I, Na, Si, As, Cr, K, Ni, Sn, B, Cu, Li, P, Sr, Ca, Fe, Mg, Pb, V, Cd, Hg, Mn, Se, Zn.

Концентрацию нейроспецифических белков определяли методом иммуноферментного анализа. Математическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования выявлено, что на ранней стадии ишемического инсульта, возникающего в результате тромбоза, облитерации или эмболии мозговых сосудов, наблюдается уменьшение на 40–50% энергетического метаболизма не только в очаге инсульта, но и в других зонах коры мозга. По мере развития окислительного стресса и лактоацидоза на следующих этапах ишемического каскада происходит увеличение энергетического метаболизма на 50–70% с последующим выравниванием УПП во всех отведениях — эквипотенциализацией мозга, что является неблагоприятным прогностическим признаком (табл. 1).

Таблица 1. Средние значения УПП (мВ) в норме и на разных этапах каскада ишемического инсульта в разных областях головного мозга

Этап	Область					
	Лобная (F)	Центральная (C)	Затылочная (O)	Височная правая (Td)	Височная левая (Ts)	Td – Ts
Норма	5,1 ± 1,2	10,3 ± 0,5	7,2 ± 2,1	8,1 ± 1,7	5,3 ± 0,8	3,1 ± 1,3
1-й	-5,6 ± 0,1	2,5 ± 0,5	-10,4 ± 1,4	-6,1 ± 0,2	-3,3 ± 1,1	-3,1 ± 0,4
2-й	46,4 ± 2,5	53,2 ± 3,8	43,9 ± 2,7	36,2 ± 3,4	46,8 ± 4,1	-10 ± 1,8
3-й	70,0 ± 1,4	70,0 ± 1,1	69,0 ± 0,3	70,1 ± 1,0	69,4 ± 2,5	0,6 ± 0,2
4-й	125 ± 3,7	125 ± 1,2	124 ± 0,3	125 ± 2,1	125 ± 0,03	0 ± 0,1

Уменьшение УПП связано с падением потенциалов ГЭБ и нарушением структуры сосудистого русла (1-й этап, табл. 1). По мере развития микровазкулярных нарушений, развития окислительного стресса, атрофических изменений мозговой ткани, реперфузии и процессов воспаления наблюдается увеличение значений УПП в результате лактоацидоза, захватывающего все области коры полушарий. В ишемическом очаге начинаются процессы распада мозговой ткани, приводящие к закислению значительного пространства вне области поражения. Локализация ишемического очага влияет на показатели энергетического метаболизма: расположение очага в коре мозга характеризуется снижением УПП на 40–50% от нормального значения в первые часы инфаркта мозга. Если ишемический очаг располагается в стволовой части мозга или в вертебро-базиллярном бассейне, то уже с первых минут нарушения мозгового кровообращения наблюдается увеличение УПП на 50–70% на большой площади коры мозга в результате вторичного закисления мозга.

Процессы распада мозговой ткани вызывают окислительный стресс, развивающийся по принципу снежной лавины. Мозг переходит на анаэробный метаболизм, процессы острой эксайтоксичности приводят к патологическому увеличению энергетического обмена, распространяющемуся на оба полушария. На этом этапе часто наблюдается зеркальный очаг повышенного церебрального энергообмена в здоровом полушарии, что, вероятно, связано с общим нарушением мозгового кровообращения, приводящим к изменению межполушарных отношений, выражающемуся в отсутствии тормозных межполушарных влияний (2-й этап, табл. 1). При формировании очага апоптоза показатели постоянного потенциала не только возрастают еще больше, но и выравниваются во всех отведениях – происходит эквипотенциализация коры мозга, которая ассоциируется с атрофическими процессами по всей поверхности обоих полушарий. В период реперфузии ранее ишемизированных участков мозга особенно сильно проявляется влияние свободных радикалов. Реперфузия и реоксигенация обуславли-

вают многократное повышение парциального давления кислорода. Возникает дальнейшая активация свободнорадикального окисления, накопление активных форм кислорода, основной мишенью которых на данном этапе ишемического каскада является капиллярный эндотелий – морфологическая основа ГЭБ. В результате ишемически-реперфузионного повреждения ткани мозга происходит прилипание лейкоцитов к эндотелию сосудов, развивается локальное воспаление обуславливающее обструкцию мелких сосудов (3-й этап, табл. 1). При неблагоприятном развитии ишемического процесса значения энергетического метаболизма мозга возрастают до предельно высоких при сохранении эквипотенциализации мозга и потере асимметричной организации. Такие показатели часто ассоциируются с терминальной стадией заболевания (4-й этап, табл. 1).

При благоприятном развитии дисциркуляторного заболевания после проведения комплексной нейропротекторной, антиокислительной, тромболитической, антикоагулянтной и противовоспалительной терапии происходит частичное восстановление энергетического метаболизма мозга, снижение показателей УПП, которые в период реабилитации часто оказываются ниже нормальных значений.

При статистической обработке результатов с помощью дисперсионного анализа по Круску–Уоллесу было показано достоверное различие концентрации макро- и микроэлементов и концентрации нейроспецифических белков, ассоциированное с различными показателями УПП. Поскольку значения УПП, характеризующего энергетический метаболизм ишемизированного мозга, достоверно различаются на разных этапах ишемического каскада, авторы предположили, что связь между показателями УПП и концентрацией макро- и микроэлементов может быть контролем и подтверждением маркерного и прогностического значения последних.

Корреляционный анализ выявил высокодостоверную связь между значениями УПП в разных областях мозга и концентрацией макро- и микроэлементов в сыворотке крови (см. табл. 2).

Таким образом, макро- и микроэлементы достоверно связаны с показателями УПП в различных областях мозга. Самое большое количество корреляционных связей выявлено в центральной области мозга. Известно, что значения УПП в центральной области более, чем в других областях связаны с вегетативными реакциями и отражают уровень церебрального энергообмена не только в коре, но и в стволовой части мозга. Все макро- и микроэлементы, связанные с показателем церебрального энергообмена, участвуют в комплексе иммуно-биохимических реакций и играют ключевую роль в развитии дисциркуляторной патологии.

На следующем этапе многофакторного анализа была выявлена связь между церебральным энергообменом и концентрацией нейроспецифических белков, характеризующих состояние мозговой ткани при ишемическом инсульте.

Белок S100 является специфическим белком астроцитарной глии, способным связывать кальций. В ранней фазе церебрального инфаркта микроглиальные клетки в перинфарктной зоне экспрессируют S100 и активно пролиферируют, что свидетельствует об активации постоянной популяции микроглии, является ответом мозговой тка-

ни на ишемию и может использоваться как ранний маркер повреждения (Wunderlich et al., 1999).

Аутоантитела к NR2 – подтипу NMDA глутаматного рецептора, глутамата и гомоцистеина при инсульте образуются в мозге. Ион магния удаляется при деполяризации постсинаптической мембраны, на которой находится рецептор. Избыточная секреция глутамата, вызванная церебральной ишемией, приводит к гиперактивации рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартат). Их избыточное количество (в особенности субъединицы NR2) отщепляется сериновыми протеазами, проходит через ГЭБ, активирует иммунную систему и вызывает образование антител, а присутствие в крови свидетельствует о повышенном риске ТИА/инсульта (Weissman et al., 2011; Dambinova et al., 2012).

Белки VEGF служат частью системы, отвечающей за восстановление подачи кислорода к тканям в ситуации, когда циркуляция крови недостаточна. VEGF оказывает мощное влияние на проницаемость сосудов, усиливает ангиогенез и процессы неоваскуляризации в патологических условиях, а также содействует усилению отека вещества мозга и в дальнейшем способствует разрушению базальных мембран (Adamczak et al., 2014; Crafts et al., 2014).

Таблица 2. Значения коэффициентов корреляции между показателями уровня постоянного потенциала (УПП, мВ) в различных отделах и концентрацией макро- и микроэлементов (мкг/мл)

Область	Элемент					
	Cu	Zn	Se	Mn	Fe	Mg
Лобная (F)	-0,6 $p = 0,02$	-	-	-	-	0,7 $p = 0,02$
Центральная (C)	-0,7 $p = 0,001$	-0,6 $p = 0,003$	0,8 $p = 0,0001$	0,5 $p = 0,003$	0,6 $p = 0,02$	0,5 $p = 0,02$
Затылочная (O)	-	-	-	-	-	-0,45 $p = 0,002$
Височная правая (Td)	-	-	-	-	-	-0,5 $p = 0,004$
Височная левая (Ts)	-	-	-	-	-	0,5 $p = 0,005$

Таблица 3. Значения коэффициентов корреляции между показателями уровня постоянного потенциала (УПП, мВ) в различных отделах и концентрацией нейроспецифических белков

Белки	Область				
	Лобная (F)	Центральная (C)	Затылочная (O)	Височная правая (Td)	Височная левая (Ts)
S100	0,5 $p = 0,04$	0,5 $p = 0,03$	-	0,6 $p = 0,02$	-0,6 $p = 0,01$
АТ к NR2		0,7 $p = 0,03$	0,45 $p = 0,05$	0,7 $p = 0,003$	0,66 $p = 0,004$
VEGF	0,55 $p = 0,02$	-	0,6 $p = 0,01$	0,6 $p = 0,04$	0,5 $p = 0,02$

Выявление связи между нейрофизиологическими и биохимическими маркерами в условиях ишемизации мозговой ткани соответствует концепции сопряженности, лежащей в основе механизмов этиопатогенеза ишемического инсульта.

Положительная связь между показателями церебрального энергообмена (УПП в различных отведениях) и концентрацией нейроспецифических белков подчеркивает их роль как биохимических маркеров повреждения ишемизированной мозговой ткани.

Итак, достоверные корреляционные связи между нейроспецифическими белками и показателями энергетического метаболизма мозга свидетельствуют о том, что молекулярные механизмы, лежащие в основе различных видов патологий нервной системы, включая ишемизацию мозга, проявляются через системные многофакторные этиопатогене-

тические механизмы нарушения физиологических функций ЦНС (в частности, через изменение церебрального энергообмена).

Центральным механизмом дизрегуляционных расстройств ЦНС является образование патологических интеграций из ее измененных структур, которые возникают уже на молекулярном уровне (в частности, в виде измененных белков). Далее следует патофизиология измененных нейронов с последующим образованием патологических систем (например, сложный и многофакторный ишемический каскад).

Исследование связи концентрации макро- и микроэлементов с концентрацией нейроспецифических белков служит доказательством тезиса о многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта, определяет их участие в дизрегуляционной патологии при ишемизации мозга.

Таблица 4. Значения коэффициентов корреляции между концентрацией нейроспецифических белков и концентрацией микро- и микроэлементов (мкг/мл)

Белки	Элемент					
	Cu	Zn	Se	Mn	Fe	Mg
S100	0,5 $p = 0,002$	0,58 $p = 0,02$	0,7 $p = 0,004$	0,6 $p = 0,01$	0,7 $p = 0,02$	0,45 $p = 0,003$
АТ к NR2	0,6 $p = 0,003$	0,7 $p = 0,004$	0,6 $p = 0,0005$	0,5 $p = 0,03$	0,6 $p = 0,04$	0,6 $p = 0,01$
VEGF	0,6 $p = 0,04$	0,55 $p = 0,0002$	0,5 $p = 0,00001$	0,7 $p = 0,04$	0,45 $p = 0,0003$	0,6 $p = 0,03$

Корреляционный анализ с высокой степенью достоверности выявил связи нейроспецифических белков с концентрацией макро- и микроэлементов, подтверждая тезис о многофакторном механизме дизрегуляционной патологии.

На заключительном этапе исследования проведен множественный регрессионный анализ, цель которого — измерение связи между зависимой переменной и несколькими независимыми переменными. Принципиальная идея регрессионного анализа состоит в том, что, имея общую тенденцию для переменных — в виде линии регрессии, можно предсказать значение зависимой переменной, имея значение независимой. Регрессия, особенно множественная, является эффективным методом моделирования и прогнозирования, т.е. это удобный инструмент тестирования гипотез. С помощью регрессионного анализа авторы провели тестирование основного тезиса исследования: дизрегуляционный этиопатогенетический механизм ишемического инсульта является многокомпонентным, состоящим из множества эндогенных факторов. Установление многоуровневых механизмов существенно важных для жизни патологических процессов на молекулярном, нейрональном, системном и организменном уровнях, выявление их связи и взаимодействий имеет фундаментальное значение. При регрессионном анализе в качестве зависимой переменной был выбран протеин С — активируемый

фактор свертывания XIV, — основной физиологический антикоагулянт, который обеспечивает физиологическую антитромботическую активность крови и обладает также выраженными противовоспалительной и антиапоптозной активностями. Протеин С — один из наиболее важных физиологических ингибиторов свертывания, принципиально важного процесса в этиопатогенезе ишемического инсульта. Дефицит протеина С — частая причина тромбоэмболических заболеваний и дисциркуляции мозга.

Исследовали наличие зависимости биохимических параметров оценки тяжести инсульта, концентраций микроэлементов и нейрофизиологических показателей. В качестве биохимических параметров оценки тяжести инсульта были выделены протеин С, нейроспецифические белки S100, АТ к NR2, VEGF. Использовали пошаговую forward-модель, F включения 2,7 – F исключения 2,65. Выявлена зависимость величин параметра протеин С от следующих биохимических и нейрофизиологических параметров: макро- и микроэлементы, нейроспецифические белки S100, АТ к NR2, VEGF, показатели УПП во всех отведениях (F, C, O, Td, Ts).

Коэффициенты оценки достоверности результатов: $R = 0,959$; $R^2 = 0,920$. Достоверность зависимости p лежит в диапазоне от 0,0000001 до 0,002 (рисунок).

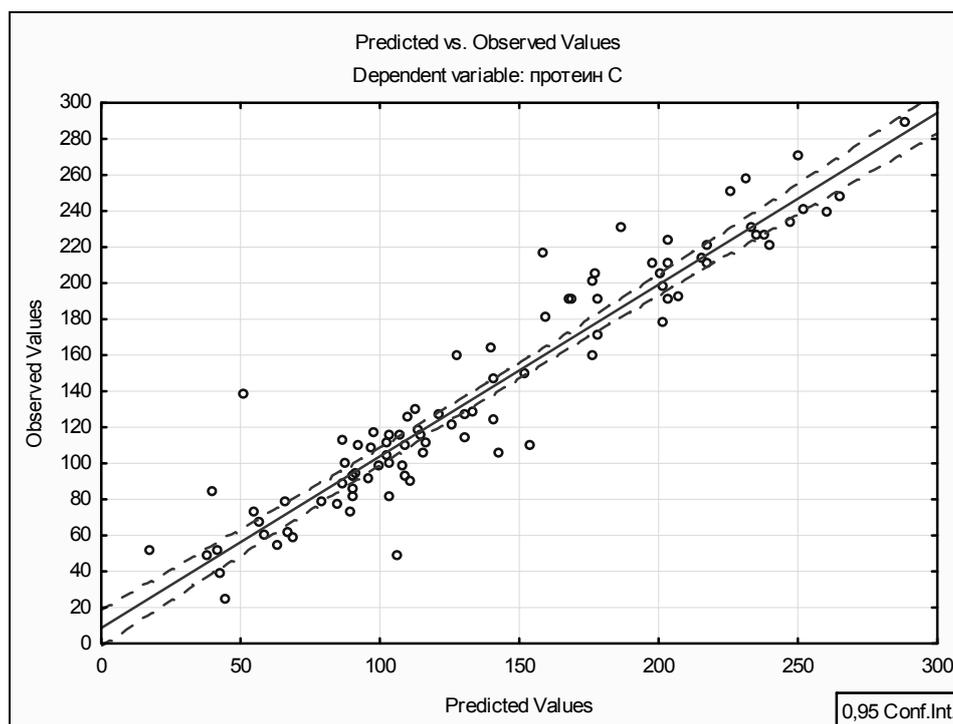


График зависимости предсказанных уровней протеина С от реальных значений с помощью полученного регрессионного уравнения

Итак, на заключительном этапе нашего исследования с помощью множественного регрессионного анализа с высокой степенью достоверности нашла подтверждение концепция многофакторного этиопатогенеза ишемического инсульта, и в соответствии с задачей исследования установлены количественные и качественные связи между всеми компонентами системы дисрегуляционной патологии. Данный факт является подтверждением концепции сопряженности, лежащей в основе феномена пластичности мозга. Пластичность определяет структурно-функциональную и метаболическую организацию ЦНС, реализующую продолжение эффекта после прекращения воздействия. Пластичность обеспечивает закрепление патологических изменений в нейронах, синапсах, во всем пуле молекулярных реакций и трофике, поддерживая дисрегуляцию ЦНС уже после воздействия патологического стимула. Так образуются порочные самоподдерживающие патологические круги или сетевые генераторы, возникающие на всех уровнях и являющиеся эндогенными механизмами ишемического инсульта, приводящими к мгновенной коагуляции, некрозу и апоптозу. Гибель нейрона является результатом и выражением дисрегуляционного процесса и эндогенной патологии. Именно пластичность лежит в основе центрального механизма дисрегуляционных расстройств ЦНС, когда из ее измененных структур происходит образование патологических интеграций (Гусев., Скворцова, 2001;

Крыжановский, 2002; Тул, 2007; Гусев, Крыжановский, 2009). Как видно из данного исследования, эти интеграции возникают уже на молекулярном уровне и достигают более высокого, нейрофизиологического, уровня.

В связи с тем, что от момента появления признаков нарушения мозгового кровообращения и процессов точечного накопления патологии до манифестации сосудистой катастрофы и постановки диагноза «острый инсульт» проходит достаточное количество времени (от нескольких часов до нескольких лет). Особенно актуальной является разработка репрезентативных биомаркеров только намечающейся патологии, т.е. факторов-предвестников, формирующих предболезнь. В Европейской неврологической ассоциации World Stroke Organization при оказании нейротерапевтических воздействий в качестве основной принята концепция «время – мозг»: эта концепция является основанием для проведения экспресс-мониторинга состояния мозга. (World Health Report, 2003; Okamoto, 2003; World Health Organization, 2005; Leys et al., 2007).

Выявление механизмов этиопатогенеза дисрегуляционной патологии ЦНС необходимо для разработки нового алгоритма диагностических критериев и новой стратегии реабилитационной терапии с целью обеспечения максимальной сохранности мозговой ткани при дисциркуляторных расстройствах.

ВЫВОДЫ

1. Оценка энергетического метаболизма мозга с помощью неинвазивного метода регистрации и анализа уровня постоянного потенциала может служить репрезентативным и информативным нейрофизиологическим биомаркером сохранности ишемизированной мозговой ткани.

2. Связь концентрации макро- и микроэлементов с церебральным энергообменом и нейроспецифическими белками как показателями степени повреждения мозговой ткани является основанием для использования элементного анализа в качестве высокоинформативного биохимического биомаркера сохранности мозговой ткани при дисциркуляторной патологии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

Бакунц Г.О. Эндогенные факторы церебрального инсульта. М. Геотар-Медиа. 2011. 357 с.

(Bakunts G.O. [Endogenous factors of cerebral stroke]. Moscow, 2011 [in Russ]).

Голубкина Н.А., Скальный А.В., Соколов Я.А., Щелкунов Л.Ф. Селен в медицине и экологии. М.: Издательство КМК. 2002. 134 с.

(Golubkina N.A., Skalny A.V., Sokolov Ya.A., Shchelkunov L.F. [Selenium in medicine and ecology]. Moscow, 2002 [in Russ]).

Громова О.А., Кудрин А.В. Нейрохимия макро- и микроэлементов. Новые подходы к фармакотерапии. М.: «АЛЕВ-В», 2001. 272 с.

(Gromova O.A., Kudrin A.V. [Neurochemistry of macro and trace elements. New approaches to pharmacotherapy]. Moscow, 2001 [in Russ]).

Громова О.А. Нейротрофическая система мозга: нейропептиды, макро- и микроэлементы, нейротрофические препараты. Международный неврологический журнал. 2007. № 2(12). С. 94—106.

(Gromova O.A. [Neurotrophic system of the brain: neuropeptides, macro and trace elements, neurotrophic drugs]. *Mezhdunarodnyy nevrologicheskiy zhurnal*. 2007, 2(12): 94—106 [in Russ]).

Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина. 2001. 328 с.

(Gusev E.I., Skvortsova V.I. [Cerebral ischemia]. Moscow, 2001 [in Russ]).

Гусев Е.И., Крыжановский Г.Н. (ред.). Дизрегуляторная патология нервной системы. М: Медицинское информационное агентство. 2009. 510 с.

(Gusev E.I., Kryzhanovskiy G.N. (eds.). [Dysregulatory pathology of the nervous system]. Moscow, 2009 [in Russ]).

Кудрин А.В., Громова О.А. Микроэлементы в неврологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 304 с.

(Kudrin A.V., Gromova O.A. [Trace elements in neurology]. Moscow, 2006 [in Russ]).

Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. М: РИТ Экспресс. 2002. 96 с.

(Kryzhanovskiy G.N. [Dysregulatory pathology]. Moscow, 2002 [in Russ]).

Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Айриян Н.Ю. Эпидемиология инсульта в Российской Федерации. *Consilium Medicum*. 2005. Вып. 1. С. 10—12.

(Skvortsova V.I., Stakhovskaya L.V., Ayriyan N.Yu. [Epidemiology of stroke in the Russian Federation]. *Consilium Medicum*. 2005, 1:10—12 [in Russ]).

Фокин В.Ф., Пономарева Н.В. Энергетическая физиология мозга. М.: «Антидор». 2003. 288 с.

(Fokin V.F., Ponomareva N.V. [Energy physiology of the brain]. Moscow, 2003 [in Russ]).

Фокин В.Ф., Пономарева Н.В. Способ оценки энергетического состояния головного мозга. Патент РФ. № 2135077. 1999.

(Fokin V.F., Ponomareva N.V. [A method for evaluating the energy state of the brain. Patent of the Russian Federation No.2135077. 1999 [in Russ]).

Скальный А.В. Микроэлементы для вашего здоровья. М.: Изд. дом «ОНИКС 21 век», 2004. 320 с.

(Skalny A.V. [Trace elements for your health]. Moscow, 2004 [in Russ]).

Скальный А.В., Рудаков И.Ф. Биоэлементы в медицине. М.: Изд. дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. 272 с.

(Skalny A.V., Rudakov I.F. [Bioelements in medicine]. Moscow, 2004 [in Russ]).

Тул Д.Ф. Сосудистые заболевания головного мозга. М: Геотар – Медицина. 2007. 590 с.

(Tul D.F. [Vascular diseases of the brain]. Moscow, 2007 [in Russ]).

Adamczak J.M., Schneider G., Nelles M., Que I., Suidgeest E., van der Weerd L., Löwik C., Hoehn M. In vivo bioluminescence imaging of vascular remodeling after stroke. *Front Cell Neurosci*. 2014, 5—8:274.

Aras M.A., Hara H., Hartnett K.A., Kandler K., Aizenman E. Protein kinase C regulation of neuronal zinc signaling mediates survival during preconditioning. *J Neurochem*. 2009, 110(1):106—117.

Azizova O.A., Solov'eva E.Y., Aseichev A.V., Baranova O.A., Bekman E.M., Karneev A.N., Mironova O.M., Manevsky A.P., Ivanokov A.N., Fedin A.I., Sergienko V.I. The association between oxidative stress markers and clinical course of chronic cerebral ischemia. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S. S. Korsakova*. 2013, 113(9 Pt 2):21—27.

Baskin A., Buchegger F., Seimbille Y., Ratib O., Garibotto V. PET molecular imaging of hypoxia in ischemic stroke: an update. *Anal Sci*. 2014, 30(10):985—990.

Bhudia S.K., Cosgrove D.M., Naugle R.I., Rajeswaran J., Lam B.K., Walton E., Petrich J., Palumbo R.C., Gillinov A.M., Apperson-Hansen C., Blackstone E.H. Magnesium as a

neuroprotectant in cardiac surgery: a randomized clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006, 131(4):853—61.

Chan Y.H., Siu C.W., Yiu K.H., Chan H.T., Li S.W., Tam S., Cheung B.M., Lau C.P., Lam T.H., Tse H.F. Adverse systemic arterial function in patients with selenium deficiency. *J Nutr Health Aging.* 2012, 16(1):85—88.

Clarke D.D., Sokoloff L. Circulation and energy metabolism of the brain. In *Basic Neurochemistry* (ed. G.J. Siegel B.W. Agranoff R.W. Albers and P.B. Molinoff). 1994:645—680.

Crafts T.D., Jensen A.R., Blocher-Smith E.C., Markel T.A. Vascular endothelial growth factor: Therapeutic possibilities and challenges for the treatment of ischemia. *Cytokine.* 2014.

Dambinova S.A., Bettermann K., Glynn T., Tews M., Olson D., Weissman J.D., Sowell R.L. Diagnostic potential of the NMDA receptor peptide assay for acute ischemic stroke. *PLoS One.* 2012, 7(7):e42362.

Eom J.E., Lee E., Jeon K.H., Sim J., Suh M., Jhon G.J., Kwon Y. Development of an Albumin Copper Binding (ACuB) Assay to Detect Ischemia Modified Albumin. *Anal Sci.* 2014, 30:985—990.

Haraf F., Sharma A.K., Brown M.M., Lees K.R., Vass R.I., Kalra L. A multicentre observational study of presentation and early assessment of acute stroke. *BMJ.* 2002, 325:17—21.

Im D.S., Jeon J.W., Lee J.S., Won S.J., Cho S.I., Lee Y.B., Gwag B.J. Role of the NMDA receptor and iron on free radical production and brain damage following transient middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2012, 21(1455):114—123.

Kasischke K.A., Vishwasrao H.D., Fisher P.J., Zipfel W.R., Webb W.W. Neural activity triggers neuronal oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis. *Science.* 2004, 305:99—103.

Larsson S.C., Orsini N., Wolk A. Dietary magnesium intake and risk of stroke: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr.* 2012, 95(2):362—366.

Lehmenkuler A., Richter F., Popelman T. Hypoxia- and hypercapnia-induced DC potential shifts in rat at the scalp and the skull are opposite in polarity to those at the cerebral cortex. *Neurosci. Lett.* 1999, 270:67—70.

Leys D., Ringelstein E.B., Kaste M., Hacke W. The main components of stroke unit care: Results of European expert survey. *Cerebrovasc Dis.* 2007, 23:344—352.

Lipinski B., Pretorius E., Oberholzer H.M., van der Spuy W.J. Interaction of fibrin with red blood cells: the role of iron. *Ultrastruct Pathol.* 2012, 36(2):79—84.

Loaiza A., Porras O.H., Barros L.F. Glutamate triggers rapid glucose transport stimulation in astrocytes as evidenced by real-time confocal microscopy. *J Neurosci.* 2003, 23:7337—7342.

Magistretti P.J., Sorg O., Naichen Y., Pellerin L., de Rham S., Martin J.L. Regulation of astrocyte energy metabolism by neurotransmitters. *Ren Physiol Biochem.* 1994, 17(3-4):168—171.

McCranor B.J., Bozym R.A., Vitolo M.I., Fierke C.A., Bambrick L., Polster B.M., Fiskum G., Thompson R.B. Quantitative imaging of mitochondrial and cytosolic free zinc levels in an in vitro model of ischemia/reperfusion. *J Bioenerg Biomembr.* 2012, 44(2):253—263.

Mehta S.L., Kumari S., Mendelev N., Li P.A. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia. *BMC Neurosci.* 2012, (19):13—79.

Nagao M., Matsuo Y., Kamitani T., Yonezawa M., Yamasaki Y., Kawanami S., Abe K., Mukai Y., Higo T., Yabuuchi H., Takemura A., Yoshiura T., Sunagawa K., Honda H. Quantification of myocardial iron deficiency in nonischemic heart failure by cardiac T2* magnetic resonance imaging. *Am J Cardiol.* 2014, 113(6):1024—1030.

Okamoto K., Stroke Incidence and Quality Standard for Comparison. *Stroke.* 2003, 34(9):2107—2108.

Peczowska M., Kabat M., Sitkowska H., Mirocha M., Pulawska M., Sznajderman M. Zinc metabolism in essential hypertension and during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy. *Trace Elem and Elec.* 1997, 14(2):82—86.

Pellerin L., Magistretti P. J. How to balance the brain energy budget while spending glucose differently? *J Physiol.* 2003, 546:325.

Pellerin L., Pellegrini G., Bittar P.G., Charnay Y., Bouras C., Martin J.L., Stella N., Magistretti P.J. Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. *Dev Neurosci.* 1998, 20(4—5):291—299.

Pivovarova N.B., Stanika R.I., Kazanina G., Villanueva I., Andrews S.B. The interactive roles of zinc and calcium in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *J Neurochem.* 2014, 128(4):592—602.

Plane F., Wigmore S., Angelini G.D., Jeremy J.U. Effect of copper on nitric oxide synthase and guanylyl cyclase activity in the rat isolated aorta. *British J of Pharmacol.* 1997, 121(2):345—350.

Pulsinelli W., Sarokin A., Buchan A. Antagonism of the NMDA and non-NMDA receptors in global versus focal brain ischemia. *Prog Brain Res.* 1993, 96:25—35.

Siesjo B.K., Zhao Q., Pahlmark K., Siesjo P., Katsura K., Folbergrova J. Glutamate, calcium, and free radicals as mediators of ischemic brain damage. *Ann Thorac Surg.* 1995, 59(5):1316—1320.

Tsimikas S., Willeit P., Willeit J., Santer P., Mayr M., Xu Q., Mayr A., Witztum J.L., Kiechl S. Oxidation-specific biomarkers, prospective 15-year cardiovascular and stroke outcomes, and net reclassification of cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol.* 2012, 60(21): 2218—2229.

Tuomainen T.P., Punnonen K., Nyyssonen K., Salonen J.T. Association between body iron stores and the risk of acute myocardial infarction in men. *Circulation*. 1998, 97(15):1461—1466.

Weissman J.D., Khunteev G.A., Heath R., Dambinova S.A. NR2 antibodies: risk assessment of transient ischemic attack (TIA)/stroke in patients with history of isolated and multiple cerebrovascular events. *J Neurol Sci*. 2011, 15;300(1-2):97—102.

World Health Organization. Cardiovascular Disease Programme. Avoiding heart attacks and strokes. 2005.

World Health Report. Geneva: World Health Organization. 2003.

Wunderlich M.T., Ebert A.D., Kratz T. et al. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke*. 1999, 30(6):1190—1195.

Wyss M.T., R. Jolivet, A. Buck, P.J. Magistretti, B. Weber In Vivo Evidence for Lactate as Neuronal Energy Source. *J of Neuroscience*. 2011, 18:7477—7485.

Zangieva Z.K., Torshin I.Iu., Gromova O.A., Nikonov A.A. Trace elements in the nervous tissue and ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2013, 113(3 Pt 2):30—36.

Zhang C., Wong-Riley M. Expression and regulation of NMDA receptor subunit R1 and neuronal nitric oxide synthase in cortical neuronal cultures: correlation with cytochrome oxidase. *J Neurocytol*. 1999, 28:525—539.

Zhao Y., Pan R., Li S., Luo Y., Yan F., Yin J., Qi Z., Yan Y., Ji X., Liu K.J. Chelating intracellularly accumulated zinc decreased ischemic brain injury through reducing neuronal apoptotic death. *Stroke*. 2014, 45(4):1139—1147.

ENERGY METABOLISM OF THE BRAIN AND METAL-LIGAND HOMEOSTASIS IN THE ETIOPATHOGENESIS OF ISCHEMIC STROKE

L.L. Klimenko¹, A.V. Skalny², A.A. Turna³, M.S. Savostina⁴, A.N. Mazilina⁴, I.S. Baskakov¹, M.N. Budanova¹

¹ N.N. Semenov Institute of Chemical Physics at Russian Academy of Sciences, Kosygina str. 4, Moscow, 117334, Russia

² ANO Centre for Biotic Medicine, Zemlyanoi val 46, Moscow 105064, Russia

³ Institute of Professional Development at FMBA of Russia, Volokolamskoe shosse 91, Moscow, 125371, Russia

⁴ Hospital № 123 at FMBA of Russia, Krasnogorskoe shosse 15, Odintsovo, Moscow region, 143000, Russia

ABSTRACT. A comprehensive multifactorial clinical study of ischemic stroke etiopathogenesis was conducted. Using a non-invasive method of recording DC-potential capacity of the brain, in 96 patients (44 women and 51 men, average age 61.3 years) with a diagnosed ischemic stroke the dynamics of cerebral energy exchange at different stages of the ischemic cascade was determined. At the same time, concentration of 25 main macro and trace elements in blood serum of the patients was determined using emission spectrometry, and concentration of neurospecific proteins (S100, NR2 antibodies and VEGF antibodies) was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). It was found that early stages of stroke characterized by a 40–50% decrease in energy metabolism not only in the focus but also in other cerebral zones, while at next stages the energy metabolism rises by 50–70% with equalization of brain potentials at all leads, which is a unfavorable prognostic sign. Kruskal–Wallis ANOVA showed a significant difference in the concentration of macro elements, trace elements and neurospecific proteins at different DC-potential values. Correlation analysis revealed significant association between indices of cerebral energy exchange, concentration of macro elements, trace elements and neurospecific proteins, suggesting the possibility of using these parameters as biomarkers of cerebral ischemia in order to ensure maximum safety of brain tissue at cerebral dyscirculatory disorders.

KEYWORDS: ischemic stroke, brain, energy metabolism, DC-potential, trace elements.