

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## РОЛЬ СЕЛЕНА В МНОГОФАКТОРНОМ ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Л.Л. Клименко<sup>1\*</sup>, А.В. Скальный<sup>2</sup>, А.А. Турна<sup>3</sup>, А.В. Кузнецова<sup>6</sup>, О.В. Сенько<sup>4</sup>,  
И.С. Баскаков<sup>1</sup>, М.Н. Буданова<sup>1</sup>, М.С. Савостина<sup>5</sup>, А.Н. Мазилина<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> АНО «Центр биотической медицины», Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт повышения квалификации ФМБА России, Москва, Россия

<sup>4</sup> Вычислительный центр им. А.А. Дородницына РАН, Москва, Россия

<sup>5</sup> Клиническая больница № 123 ФМБА России, Одинцово, Моск. обл., Россия

<sup>6</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

**РЕЗЮМЕ.** Проанализирована роль селена в многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта. В клинических условиях у пациентов с диагнозом «ишемический инсульт» определены показатели биомаркеров дисциркуляторной патологии. Методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой определена концентрация селена в сыворотке крови. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определена концентрация нейроспецифического белка АТ к NR2 (нг/мл), являющегося строгим предиктором ишемического инсульта и характеризующего степень повреждения ишемизированной мозговой ткани. Неинвазивным нейрофизиологическим методом проведена регистрация уровня постоянных потенциалов головного мозга (УПП, мВ) в разных возрастных группах. Методом Манна–Уитни показано достоверно более низкое значение концентрации селена в старшей возрастной группе (больше 60 лет), что свидетельствует об истощении глутатионовых антиоксидантных ферментов в позднем возрасте. Выявлена сопряженность концентраций селена и АТ к NR2: более высокому значению селена соответствует более низкая концентрация АТ к NR2 и наоборот. Данный факт подтверждает взаимозависимость антиоксидантной защиты, показателем которой является селен, и нейроспецифического белка АТ к NR2 – показателя повреждения ишемизированной мозговой ткани. Корреляционный анализ выявил достоверную связь между концентрацией селена и УПП в различных областях мозга и между концентрациями селена и АТ к NR2, 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, селен, АТ к NR2, энергетический метаболизм мозга, уровень постоянного потенциала, макроэлементы, микроэлементы.

### ВВЕДЕНИЕ

Молекулярные механизмы, лежащие в основе всех видов патологий нервной системы, включая дисциркуляторные дисфункции, проявляются через системные многофакторные этиопатогенетические механизмы нарушения физиологических функций центральной нервной системы (ЦНС).

Многокомпонентность цереброваскулярных заболеваний интегрально связана не только с комплексом внешних факторов в виде наследственной отягощенности, нарушения экологии внешней среды, но, в первую очередь, с эндогенными факторами, определяющими точечное накопление цереброваскулярной патологии, особенно характерной для позднего возраста (Бакунц, 2011).

Установление многоуровневых механизмов существенно важных для жизни патологических процессов на молекулярном, нейрональном, системном и организменном уровнях, выявление их связи и взаимодействий являются по своему значению фундаментальными исследованиями. Выявление механизмов этиопатогенеза дисрегуляторной патологии ЦНС необходимо для разработки нового алгоритма диагностических критериев и новой стратегии реабилитационной терапии с целью обеспечения максимальной сохранности мозговой ткани при дисциркуляторных расстройствах (Morgan, Graeber, 2004; Джеймс, Тул, 2007; Гусев, Крыжановский, 2009).

Достижением молекулярной биологии является установление признания селена и селенсодер-

\* Адрес для переписки:

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

жащих ферментов в качестве модуляторов функции мозга. Известно, что одним из патологических механизмов возникновения как ишемических, так и нейродегенеративных заболеваний мозга является окислительный стресс. В то же время глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы являются селензависимыми ферментами, участвующими в антиоксидантной защите и внутриклеточной редокс-регуляции и модуляции. Генетическая инактивация клеточных глутатионовых ферментов повышает чувствительность к нейротоксинам при мозговой ишемии. Наоборот, увеличение активности глутатионовых ферментов приводит к положительным результатам в той же модели заболевания (Bräuer et al., 2004; Schweizer et al., 2013).

Таким образом, очевидно, что селен защищает нейроны от гипоксического/ишемического повреждения за счет уменьшения окислительного стресса, восстановления функциональной деятельности митохондрий и стимуляции митохондриального биогенеза.

Итак, селен (34Se) – это микроэлемент-антиоксидант, который является важным регулятором функций мозга. Эти свойства селена обусловлены его способностью к включению в состав селенопротеинов. В составе мозга содержатся несколько селенопротеинов (глутатионпероксидаза, тиоредоксинредуктаза, селенпротеин Р), принимающих активное участие в антиоксидантной защите при сосудистой патологии. При этом центральным внутриклеточным антиоксидантом является селенсодержащая глутатионпероксидаза. Таким образом, сниженная ферментативная активность Se-GPX – ранний маркер неблагополучия в обеспеченности мозга селеном и предвестник нейротрофических дисфункций.

При окислительном стрессе, сопровождающим развитие инсульта, истощение Se с последующим снижением активности селензависимых ферментов является важным фактором этиопатогенеза этой патологии (Fang et al., 2013; Zangieva, 2013; Bhowmick et al., 2014; Loscalzo, 2014). Известно, что во время мозгового ишемического каскада фактором, который приводит к митохондриальной дисфункции, является недостаток кислорода, сопровождающийся снижением продукции АТФ. Именно селен поддерживает биогенез митохондрий и предохраняет митохондрии от окислительных повреждений. Благодаря селену нейроны, находящиеся в зоне ишемической полутени, могут быть защищены от гибели (апоптоза). Применение селенита натрия после церебральной ишемии оказывает нейропротекторное действие благодаря своим антиоксидантным свойствам (Zimmermann et al., 2004; Gupta et al., 2003). Итак, физиологическое поступление селена признано защитным фактором в борьбе с инсультом. Ионы Se активируют окислительно-восстановительные ферменты митохондрий и микросом, глутатионредуктазу, глутатионпероксидазу, цитохром P<sub>450</sub>, участвуют в синтезе гликогена, АТФ, в передаче электронов

от гемоглобина к кислороду, поддерживают обмен цистеина, потенцируют работу α-токоферола, являются антидотом против тяжелых металлов в мозге (ртути, серебра, кадмия, в меньшей степени – свинца, никеля (Parnham et al., 2000; Porciúncula et al., 2001; Голубкина и др. 2002; Reisinger et al., 2009; Mehta et al., 2012; Chan et al, 2012; Клименко и др., 2014).

Недостаточный уровень селена в мозге приводит к нарушению функции и структуры нейронов, следствием которого является апоптоз и гибель нейронов, нейродегенерация.

Поскольку очевидно, что концентрация селена в периферической крови – маркер состояния мозга при нейродегенеративных и цереброваскулярных заболеваниях, этот факт открывает перспективы для ранней профилактической индивидуально ориентированной работы по борьбе с инсультом в зависимости от вариантов генотипа. Коррекция баланса селена у больных, перенесших инсульт, становится обязательной реабилитационной стратегией, без которой невозможно добиться устойчивых результатов в нейропротекции.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, определившие нейропротекторную и антиоксидантную роль селена, до настоящего времени остается невыясненным его участие в многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта, в том числе отсутствуют данные о количественной и качественной связи между концентрацией селена и комплексом эндогенных факторов ишемического инсульта, имеющих диагностическое и прогностическое значение.

В этой связи особенно важным для решения терапевтических и прогностических задач является установление связи между концентрацией селена и селенсодержащих ферментов с биомаркерами, характеризующими как степень повреждения, так и степень сохранности мозговой ткани при дисциркуляции мозга. Сопряженная динамика биомаркеров дисциркуляции мозга может служить проверкой и подтверждением системных многофакторных этиопатогенетических процессов, лежащих в основе дисциркуляторных механизмов нарушения физиологических функций ЦНС. Непосредственным симптомом, приводящими к инсульту, является сужение просвета сосудов и головного мозга и затруднение доставки кислорода к нейронам, т.е. нарушение энергетического метаболизма головного мозга. Оценка энергетического метаболизма мозга базируется на анализе мозгового кровотока, электрических характеристик гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), а также метаболизма глюкозы и кислорода (Pellerin, Magistretti, 2003; Фокин и др., 2003; Kasischke et al., 2004; Jolivet et al., 2011). Именно энергетический дефицит и лактатацидоз являются триггерами каскада патобиохимических реакций, протекающих во всех основных клеточных пулах ЦНС и приводящих к формированию инфаркта мозга по двум основным механизмам: некроза и

апоптоза. Таким образом, церебральный энергетический метаболизм является маркером – предвестником дисциркуляторных дисфункций и критерием сохранности мозговой ткани. Современным методом нейровизуализации и оценки церебрального энергетического метаболизма является неинвазивный метод регистрации и анализа уровня постоянных потенциалов головного мозга (УПП, мВ), отражающего сосудистые потенциалы головного мозга и являющегося показателем интенсивности церебрального энергетического метаболизма. В генерации этих потенциалов основную роль играет закисление экстраклеточного матрикса, возникающее при накоплении лактата. Основным источником УПП являются потенциалы ГЭБ, при этом потенциалобразующим ионом является ион водорода. Данные многочисленных экспериментальных исследований свидетельствуют о связи УПП с показателями церебрального энергетического обмена: с потреблением кислорода и глюкозы, накоплением гликогена, концентрацией АТФ и других энергетических метаболитов, а также с соотношением окисленных и восстановленных форм дыхательных ферментов NAD-NADH и с интенсивностью реакций свободнорадикального окисления липидов мембран головного мозга. Регистрируемые на коже головы потенциалы отражают интенсивность метаболических процессов тех или иных участков мозга и служат показателями их функциональной активности. Таким образом, метод позволяет осуществлять нейровизуализацию биохимических процессов, топографическое картирование церебрального энергообмена и является нейрофизиологическим аналогом ПЭТ. Информативными являются не только значения УПП в точках отведения, но и разности УПП, характеризующие межцентральные отношения между УПП разной локализации.

Поскольку ишемизация мозга ассоциируется с окислительным стрессом, выявление количественной и качественной связи между показателем церебрального энергообмена и антиоксидантными глутатионовыми ферментами, кофактором которых является селен, соответствует концепции сопряженности многофакторных механизмов формирования нарушения мозгового кровоснабжения.

Нейроспецифические белки – аутоантитела к NR2 – характеризуют повреждение мозговой ткани при дисциркуляции мозга. Антитела (АТ) к NR2 принадлежат к подтипу NMDA глутаматного рецептора, играющего центральную роль в процессах эксайтотоксичности и определяются через 3–6 месяцев после предшествующего изолированного или множественного ишемического инсульта, и их присутствие предсказывает повышенный риск транзиторной ишемической атаки и ишемического инсульта в близком будущем. Диагностическое значение NR2-антител при ишемическом инсульте приближается к 95,9% (Pulsinelli et al., 1993; Zhang et al., 1999; Loaiza et al., 2003; Sharp et al., 2003; Glynn et al., 2007; Weissman et al., 2007; Dambinova

et al., 2008, 2012; Whiteley et al., 2008; Gielen et al., 2009). Поскольку АТ к NR2, как и селен, участвуют в этиопатогенезе ишемического инсульта, центральным биомаркером которого является измененный церебральный энергообмен, исследование их взаимосвязи может внести вклад в развитие концепции сопряженности многофакторных механизмов формирования дисциркуляции мозга.

Цель работы – анализ роли селена в многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в клинических условиях, где у пациентов с диагнозом «ишемический инсульт» ( $n = 96$ , из них 48 мужчин и 48 женщин; средний возраст  $65 \pm 0,3$  лет) были определены показатели биомаркеров ишемического инсульта.

Методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргонной плазмой на атомно-эмиссионном спектрометре Optima 2000 DV («Perkin Elmer Inc.», США) была определена концентрация селена в сыворотке крови в микрограммах на миллилитр (мкг/мл).

Пробоподготовка сыворотки крови для определения концентрации селена проводилась следующим образом. Образцы сыворотки разбавлялись в пропорции 1:15 подкисленным дилуэнтном. Дилуэнт состоял по объему из 1% 1-Butanol (№ 1.00988, «Merck KGaA», Германия), 0,1% Triton X-100 (Sigma № T9284 «Sigma-Aldrich, Co.», США) и 0,07%  $\text{HNO}_3$  (Fluka № 02650 «Sigma-Aldrich, Co.», США), растворенных в дистиллированной деионизованной воде с удельным сопротивлением 18,2 МОм·см, полученной с использованием деионизатора (№ 9000602, «Labconco Corp.», США). Такой дилуэнт имеет  $\text{pH} = 2,0$ , он быстро и полностью растворяет клетки крови и протеины, позволяя получать чистые и стабильные растворы образцов. На этом пробоподготовка заканчивается и полученный раствор образца вводится для анализа в ИСП-МС систему Nexion 300D («Perkin Elmer Inc.», США). Данная технология пробоподготовки разработана в Центре биотической медицины (Москва).

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определена концентрация АТ к NR2 в нанограммах на миллиметр (нг/мл).

Уровень постоянного потенциала головного мозга (УПП, мВ) измерялся неинвазивно неполярными хлорсеребряными электродами с сопротивлением 30 кОм от кожи головы в пяти точках: лобной (F), центральной (C), затылочной (O), правой (Td) и левой (Ts) височных с помощью электрометрического усилителя «Нейроэнергокартограф» с входным сопротивлением  $10^{14}$  Ом.

Математическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 и метода оптимальных достоверных разбиений (ОДР), входящего в группу методов

интеллектуального анализа данных «Date mining» (Zhuravlev et al., 2008; Senko, Kuznetsova, 2010).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На **первом этапе** исследования была проверена гипотеза о возрастном критерии как факторе риска ишемического инсульта. Факторы риска ишемического инсульта включают широкий спектр кардиоваскулярных заболеваний, эндокринных и метаболических дисфункций. Однако поздний возраст является признаком, объединяющим все возможные факторы риска и, следовательно, является важнейшим среди всех прочих прогностических признаков ишемического инсульта. При этом клинические особенности ишемического инсульта в различных возрастных группах имеют существенное различие, что определяет сохранность мозговой ткани, прогноз заболевания и эффективность реабилитационных воздействий (Клименко и др., 2015).

Для выделения параметров, достоверно различающихся у пациентов разного возраста, применялся метод Манна–Уитни.

Все пациенты были разделены на две группы: до 60 лет ( $n = 46$ ) и после 60 лет ( $n = 50$ ).

В табл. 1 показаны концентрация селена в сыворотке крови и нейрофизиологические показатели (УПП, мВ) в различных областях мозга у пациентов с диагнозом ишемический инсульт в двух возрастных группах: до и после 60 лет. Исследование проводилось у пациентов в начальной стадии ишемического каскада, характеризующегося снижением энергетического метаболизма во всех областях головного мозга.

Итак, достоверное различие в группах пациентов до и после 60 лет имеют нейрофизиологические показатели в различных областях коры головного мозга и концентрация селена в сыворотке крови. Динамика показателей церебрального энергетического метаболизма в различных возрастных группах свидетельствует о том, что по мере углубления ишемического процесса в позднем возрасте происходит развитие окислительного стресса и усиление церебрального энергообмена, ассоциированного с вовлечением его резервного звена – анаэробного гликолиза, катаболизма кетоновых тел, аминокислот. Достоверное снижение концентрации селена после 60 лет свидетель-

ствует об истощении глутатионовой редокс-системы (антиоксидантной защиты) в позднем возрасте. У мужчин и женщин не было выявлено различие исследованных показателей.

На **втором этапе** математической обработки результатов был использован метод оптимальных достоверных разбиений (ОДР), входящий в группу методов интеллектуального математического анализа «Data mining».

Метод ОДР основан на поиске оптимальных разбиений на парах исследуемых показателей из базы данных с помощью прямых, параллельных координатным осям. Целевым показателем является разделение на два класса, например, группа пациентов с высокой и низкой концентрациями АТ к NR2. В обеих группах показатели из базы данных автоматически разделяются границей таким образом, чтобы с одной стороны от границы оставались преимущественно значения одного класса (например, только значения с высокой концентрацией АТ к NR2), а с другой стороны от границы – значения другого класса (с низкой концентрацией АТ к NR2).

Таким образом, ищутся оптимальные разбиения, которые наилучшим образом разделяют сравниваемые группы. При этом разделяющая способность разбиения оценивается с помощью статистики критерия Хи-квадрат. Статистическая достоверность представленной закономерности оценивается с помощью перестановочного теста. Для каждого показателя с определенной границей вычисляется  $p$ -значение. Если оно меньше 0,05, считается, что данный показатель информативен для разделения двух исследуемых групп пациентов и имеет диагностическую ценность с точки зрения разделения исследуемых групп. Статистическая достоверность двумерных закономерностей оценивается с помощью модифицированного варианта перестановочного теста на 2000 случайных выборках, позволяющего оценить значимость каждой из двух объясняющих переменных с помощью соответствующих  $p$ -значений. Одним из преимуществ подхода является возможность выявления нелинейных эффектов, а также наглядная форма представления результатов анализа в виде двумерных диаграмм рассеяния.

Одномерный анализ с помощью метода ОДР выявил достоверные различия концентрации се-

*Таблица 1. Концентрация селена в сыворотке крови и значения нейрофизиологических показателей у пациентов с диагнозом ишемический инсульт в различных возрастных группах (критерий Манна–Уитни)*

| Показатель     | До 60 лет ( $n = 46$ ) |             | После 60 лет ( $n = 50$ ) |             | Достоверность $P$ |
|----------------|------------------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------------|
|                | Среднее                | Медиана     | Среднее                   | Медиана     |                   |
| Se, мкг/мл     | 0,115±0,002            | 0,115±0,003 | 0,105±0,002               | 0,102±0,001 | 0,0089            |
| УПП (F-Ts), мВ | -3,841±0,01            | -5,400±0,05 | 0,728±0,04                | 0,35±0,0001 | 0,016             |
| УПП (O-Ts), мВ | -0,863±0,004           | 0,6±0,001   | 3,539±0,02                | 3,369±0,03  | 0,026             |

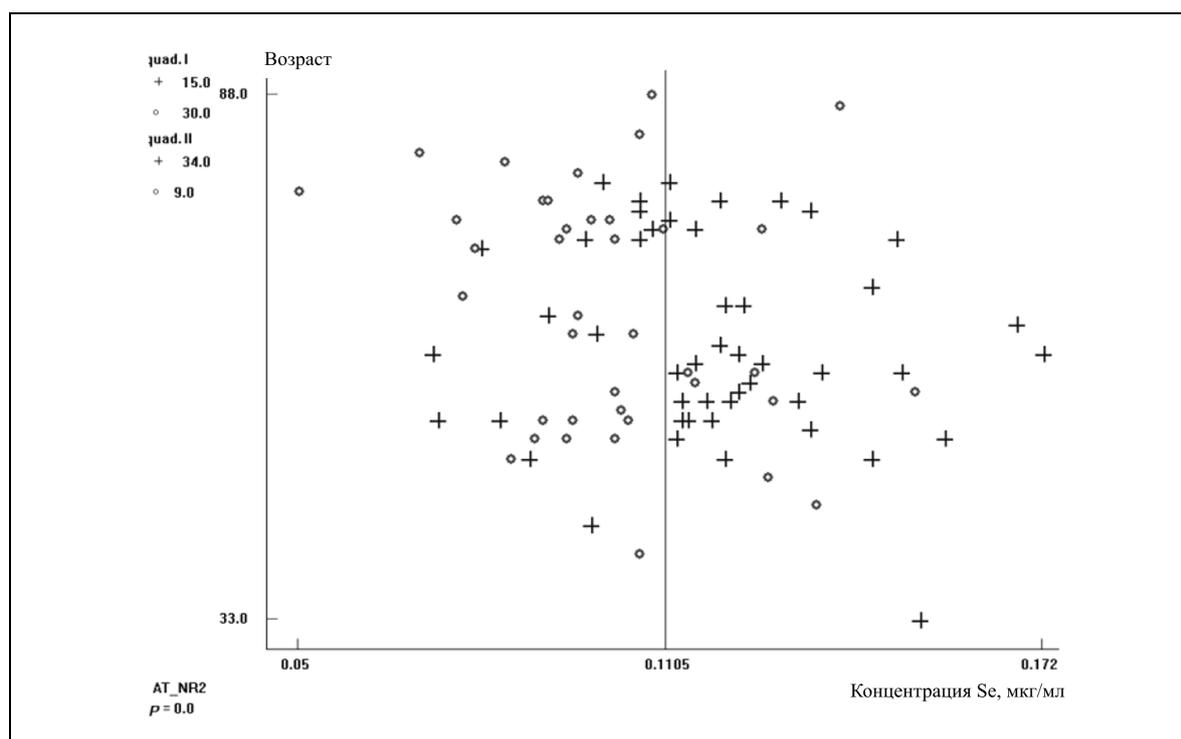


Рис. 1. Диаграмма рассеяния концентраций селена (мкг/мл) и АТ к NR2 (нг/мл)

селена (мкг/мл) в зависимости от концентрации АТ к NR2 (нг/мл) при уровне значимости  $p < 0,001$ .

Пациенты были разбиты на две группы по концентрации АТ к NR2 (нг/мл): 1) 49 пациентов с концентрацией АТ к NR2 меньше 3 нг/мл (на рис. 1 обозначены знаком «плюс» +); 2) 39 пациентов с концентрацией АТ к NR2 больше 3 нг/мл (на рис. 1 обозначены кружком O). Показатель «возраст» (по Y) – вспомогательный. Он позволяет наглядно осуществить визуализацию.

В области ниже границы Se 0,1105 мкг/мл преобладают наблюдения из группы с высоким значением АТ к NR2 (нг/мл) (30 против 15). Выше этой границы преобладают наблюдения из группы с низким уровнем АТ к NR2 (нг/мл) (34 против 9). Уровень значимости  $p < 0,0005$ .

Данная диаграмма рассеяния четко определяет пороговое значение концентрации селена (0,1105 мкг/мл), ниже которого происходит резкое возрастание концентрации АТ к NR2 (нг/мл) (преобладание кружков).

Таким образом, снижение активности окислительных глутатионовых ферментов, кофактором которых является селен, ассоциировано с увеличением концентрации АТ к NR2, характеризующим высокую степень повреждения мозговой ткани при ишемическом инсульте.

Корреляционный анализ выявил связь между исследованными компонентами этиопатогенеза ишемического инсульта (табл. 2).

Таким образом, показатели церебрального энергообмена имеют достоверную отрицательную

связь с концентрацией селена. При высоких значениях нейрофизиологических показателей, ассоциирующихся с высокой стадией ишемического каскада, лактоацидозом и окислительным стрессом, происходит снижение антиоксидантной защиты и, соответственно, снижение концентрации селена – кофактора системы антиоксидантных ферментов глутатионпероксидаза-глутатионредуктаза.

Корреляционный анализ выявил также достоверную отрицательную связь между концентрациями селена и АТ к NR2 в сыворотке крови:  $r = -0,7$ ;  $p = 0,0008$ .

Таблица 2. Значения коэффициентов корреляции между показателями уровня постоянного потенциала (УПП, мВ) в различных областях мозга и концентрацией селена в сыворотке крови (мкг/мл)

| Коэффициент | Значение | Достоверность $p$ |
|-------------|----------|-------------------|
| F           | -0,6     | 0,02              |
| C           | -0,8     | 0,007             |
| O           | -0,5     | 0,001             |
| Td          | -0,4     | 0,003             |
| Ts          | -0,7     | 0,001             |

Данная зависимость подтверждает результат, графически показанный на диаграмме рассеяния: высокие значения селена ассоциируются с высокой активностью глутатионовых антиоксидантных ферментов и, соответственно, низким значением АТ к NR2. В то же время высокие значения концентрации АТ к NR2, характеризующие высокую степень повреждения ишемизированной мозговой ткани, ассоциированы с низким значением селена, соответствующим низкой активности антиоксидантной защиты.

## ВЫВОДЫ

1. Проведенное исследование подтвердило сопряженность многоуровневого комплекса показателей, находящихся на разных уровнях биологической организации (молекулярном, как селен, биохимическом, как АТ к NR2, нейрофизиологическом, как уровень постоянного потенциала), которые синхронно и взаимосвязанно выполняют роль биомаркеров в многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта.

2. Выявленная количественная и качественная связь между биомаркерами дает возможность не только оценивать степень повреждения или степень сохранности мозговой ткани при ишемическом инсульте, но и превентивно, на доклинической стадии накопления точечной патологии принимать адекватные меры по ее предотвращению и обеспечению сохранности мозговой ткани.

3. В Европейской неврологической ассоциации World Stroke Organization при оказании нейротерапевтических воздействий в качестве основной принята концепция Time is brain – «время – мозг» (Maskay et al., 2004). Именно эта концепция является определяющей при разработке стратегии сохранения мозговой ткани еще до сосудистой катастрофы.

## 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 Y.A., Shchelkunov L.F. [Selenium in medicine and ecology]. Moscow, 2002 [in Russ]).

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

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

Клименко Л.Л., Скальный А.В., Турна А.А., Мазилина А.Н., Савостина М.С., Баскаков И.С., Буданова М.Н. Взаимосвязь церебрального энергообмена и металлолигандного гомеостаза при ишемическом инсульте. Сб. статей VII Междунар. науч.-практич. конф. «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (20–21 ноября 2014). СПб., 2014. С. 29–32.

(Klimenko L.L., Skalny A.V., Turna A.A., Mazilina A.N., Savostina M.S., Baskakov I.S., Budanov M.N. [The relationship of cerebral energy exchange and metal-ligand homeostasis in ischemic stroke]. In: Proc VII Int Conf “High technology, fundamental and applied research in physiology and medicine”. St.Petersburg. 2014 29–32 [in Russ]).

Клименко Л.Л., Турна А.А., Скальный А.В., Баскаков И.С., Буданова М.Н., Савостина М.С., Мазилина А.Н. Поздний возраст как фактор риска ишемического инсульта. Сб. статей VIII Междунар. науч.-практич. конф. «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (20–22 мая 2015). СПб., 2015. Т. 1. С. 64–66.

(Klimenko L.L., Turna A.A., Skalny A.V., Baskakov I.S., Budanov M.N., Savostina M.S., Mazilina A.N. [Late age as a risk factor for ischemic stroke]. In: Proc VIII Int Conf “High technology, fundamental and applied research in physiology and medicine”. St.Petersburg. 2015. 64–66 [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]).

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

(Toole J.F. [Cerebrovascular disorders]. Moscow. 2007 [in Russ]).

Bhowmick D., Srivastava S., D'Silva P., Mughesh G. Highly efficient glutathione peroxidase and peroxiredoxin mimetics protect mammalian cells against oxidative damage. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2015, 54(29):8449-8453.

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.

Dambinova S.A., Khunteev G.A., Olson D.A., Izykenova G.A., Heath R., Fedanov A.V., Weissman J.D. NR2 peptide indicates transient ischemic attack and acute ischemic stroke. *Int J Stroke.* 2008, 3:153–154.

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.

- Fang K.M., Cheng F.C., Huang Y.L., Chung S.Y., Jian Z.Y., Lin M.C. Trace element, antioxidant activity, and lipid peroxidation levels in brain cortex of gerbils after cerebral ischemic injury. *Biol Trace Elem Res.* 2013, 1:66–74.
- Gielen M., Siegler Retchless B., Mony L., Johnson J.W., Paoletti P. Mechanism of differential control of NMDA receptor activity by NR2 subunits. *Nature.* 2009, 4:703–707.
- Glynn T., Tews M., Izykenova G., Hughes M., Khunteev G., Dambinova S. The clinical utility of serum NR2 peptide assay in the diagnosis of patients presenting to the emergency department with acute cerebrovascular ischemic events. *Ann Emerg Med.* 2007, 50:35.
- Gupta R., Singh M., Sharma A. Neuroprotective effect of antioxidants on ischaemia and reperfusion-induced cerebral injury. *Pharmacol Res.* 2003, 48(2):209–215.
- 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.
- 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.
- Loscalzo J. Redox dysregulation in vascular pathobiology. *Free Radic Biol Med.* 2014, 75 Suppl 1:S2.
- Wyss M.T., Jolivet R., Buck A., Magistretti P.J., Weber B. In vivo evidence for lactate as neuronal energy source. *J Neurosci.* 2011, 18:7477–7485.
- Mackay J., Mensah G. The atlas of heart disease and stroke. World Health Organization. 2004, 50–51.
- 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.
- Morgan L.B., Graeber M.B. The facial nerve axotomy model. *Brain Research reviews.* 2004, 44:154–178.
- Parnham M., Sies H. Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia. *Expert Opin Investig Drugs.* 2000, 9(3):607–619.
- Parnham M.J., Sies H. The early research and development of ebselen. *Biochem Pharmacol.* 2013, 1:1248–1253.
- Pellerin L., Magistretti P.J. How to balance the brain energy budget while spending glucose differently? *J Physiol.* 2003, 546:325.
- Porciúncula L.O., Rocha J.B., Boeck C.R., Vendite D., Souza D.O. Ebselen prevents excitotoxicity provoked by glutamate in rat cerebellar granule neurons. *Neurosci Lett.* 2001, 299(3): 217–220.
- 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.
- Reisinger J., Höllinger K., Lang W., Steiner C., Winter T., Winter A., Mori M., Lindorfer A., Kiblböck D., Siostrzonek P. Does early administration of selenium improve neurological outcome after cardiac arrest? *Am J Emerg Med.* 2009, 27(2):176–181.
- Schweizer U., Bräuer A.U., Köhrle J., Nitsch R., Savaskan N.E. Selenium and brain function: a poorly recognized liaison. *Brain Res Brain Res Rev.* 2004, 3:164–178.
- Senko O., Kuznetsova A. A recognition method based on collective decision making using systems of regularities of various types. *Pattern Recognition and Image Analysis.* 2010, 20(2):152–162.
- Sharp C.D., Fowler M., Jackson T.H., Houghton J., Warren A., Nanda A. Human neuroepithelial cells express NMDA receptors. *BMC Neurosci.* 2003, 4:28.
- Weissman J.D., Khunteev G.A., Olson D., Izykenova G., Dambinova S. NR2 peptide levels correlate with acute cortical stroke volume and may detect reversible ischemia. *Stroke.* 2007, 38:494.
- Whiteley W., Tseng M.C., Sandercock P. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke. A systematic review. *Stroke.* 2008, 39:2902–2909.
- Zhuravlev Yu.I., Kuznetsova A.V., Ryazanov V.V., Senko O.V., Botvin M.A. The use of pattern recognition methods in tasks of biomedical diagnostics and forecasting. *Pattern Recognition and Image Analysis.* 2008, 18:195–200.
- 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, 113:30–36.
- 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.
- Zimmermann C., Winnefeld K., Streck S., Roskos M., Haberl R.L. Antioxidant status in acute stroke patients and patients at stroke risk. *Eur Neurol.* 2004, 51(3):157–161.

## THE ROLE OF SELENIUM IN THE MULTIVARIATE ETIOPATHOGENESIS OF ISCHEMIC STROKE

*L.L. Klimenko<sup>1</sup>, A.V. Skalny<sup>2</sup>, A.A. Turna<sup>3</sup>, A.V. Kuznetsova<sup>6</sup>, O.V. Senko<sup>4</sup>,  
I.S. Baskakov<sup>1</sup>, M.N. Budanova<sup>1</sup>, M.S. Savostina<sup>5</sup>, A.N. Mazilina<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Kosygin str. 4, Moscow, 119991, Russia; e-mail: klimenkoll@mail.ru

<sup>2</sup> Center for Biotic Medicine, Zemlyanoi val 46, Moscow, 105064, Russia

<sup>3</sup> Institute of Professional Development of FMBA of Russia, Volokolamskoe shosse 30, Moscow, 123182, Russia

<sup>4</sup> Computing Centre of the Russian Academy of Sciences, Vavilov str. 40, Moscow, 119333, Russia

<sup>5</sup> Hospital № 123 at FMBA of Russia, Krasnogorskoe shosse 15, Odintsovo, Moscow region, 143000, Russia

<sup>6</sup> N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Kosygin str. 4, Moscow, 119334, Russia

**ABSTRACT.** The role of selenium in the multivariate etiopathogenesis of ischemic stroke was analyzed. In clinical settings, biomarkers of dyscirculatory pathology was assessed in patients diagnosed with «ischemic stroke» (n = 96, mean age 65 ± 0.3 years). Selenium concentration in the blood serum (µg/ml) was determined by atomic emission spectrometry with inductively coupled argon plasma. Selenium is a cofactor of glutathione antioxidant enzyme, and its concentration is an indicator of the antioxidant protection activity. Concentration of neurospecific proteins, antibodies to the NR2 peptide (NR2-AB, ng/ml), was determined in blood serum by ELISA. Their level is strictly a predictor of ischemic stroke that characterizes the extent of damage of ischemic brain tissue. Brain DC-potentials were recorded by a non-invasive neurophysiological method in different age groups. Mann-Whitney method showed significantly lower concentrations of selenium in the oldest age group (over 60 years) that indicates depletion of glutathione antioxidant enzymes in the later age. A contingency between concentrations of selenium and NR2-AB was found: the higher the selenium concentration, the lower the concentration of NR2-AB, and vice versa. This fact confirms the interdependence of the antioxidant protection, reflected by selenium, and the neurospecific proteins NR2-AB which are the indicator of ischemic brain tissue damage. Correlation analysis revealed a significant association between the concentration of selenium and the DC-potential in different areas of the brain as well as between the concentrations of selenium and NR2-AB, thus suggesting the possibility of using these indicators as biomarkers of cerebral ischemia in order to ensure maximum safety of brain tissue at dyscirculatory disorders.

**KEYWORDS:** ischemic stroke, selenium, NR2-antibodies, energy metabolism, DC-potential, trace elements.