

© Коллектив авторов, 1997

АУТОАНТИТЕЛА К ГЛУТАМАТНЫМ РЕЦЕПТОРАМ NMDA-ТИПА В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ И ГЕМОРРАГИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

А.А. СКОРОМЕЦ, С.А. ДАМБИНОВА,
А.Ю. ИЛЮХИНА, В.А. СОРОКОУМОВ

Кафедра нервных болезней Санкт-Петербургского
медицинского университета им. И.П. Павлова,
лаборатория молекулярной нейробиологии Института
мозга человека РАН, Санкт-Петербург

AUTOANTIBODIES TO NMDA-TYPE GLUTAMATE RECEPTORS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH ACUTE ISCHEMIC AND HEMORRHAGIC STROKE

А.А. СКОРОМЕЦ, С.А. ДАМБИНОВА, А.Ю. ИЛЮХИНА,
В.А. СОРОКОУМОВ

Автоантитела (ААТ) к глутаматным рецепторам *NMDA*-типа были изучены в крови больных в различные фазы (в 1–4, 5–7, 8–14-е сутки и до 28-х суток) острого периода развития нарушений мозгового кровообращения по типу ишемии или геморрагии. Стабильно низкие титры ААТ ($1,28 \pm 0,31$ нг/мл) были обнаружены у больных с острым геморрагическим инсультом. Два разных типа изменений титра ААТ были выявлены в случаях ишемического инсульта. Волнообразный характер изменений титра ААТ был отмечен при ишемических нарушениях, вызванных гипертензией и церебральным атеросклерозом (от $2,23 \pm 0,53$ нг/мл в 1-й день с увеличением до $3,23 \pm 0,90$ нг/мл и выше на 3–4-й день) и последующими колебаниями в сторону менее выраженного увеличения на 7–8-й день). Высокие титры ААТ (до 10,0 нг/мл) наблюдались на 3–4-й день в случаях ишемического типа нарушений, развившихся на основе хронической энцефалопатии, вызванной алкогольной интоксикацией или обменными сдвигами при сахарном диабете, – до 10,0 нг/мл на 3–4-й день с сохранением того же уровня на 10–14-й день.

The characteristics of accumulation of autoantibodies (aAbs) on NMDA-type glutamate receptors were studied in blood of patients at different stages (1-4 days, 5-7 days, 8-14 days, up to 28 days) of acute period of ischemic or hemorrhagic stroke. The stability of low values ($1,29 \pm 0,31$ ng/ml) of the titer of aAbs to NMDA-receptors was revealed in patients with acute cerebral hemorrhage. Two types of titer of Abs to NMDA-receptors were revealed in case with cerebral ischemia. The undulating nature of Abs titer changes was revealed in acute ischemic strokes caused by hypertension and cerebral atherosclerosis (from $2,23 \pm 0,53$ ng/ml on the 1-st day with increase up to $3,23 \pm 0,90$ ng/ml and up to the 3-4 day), following fluctuations with less pronounced increase on 7-8th day were found out. High titer of aAbs to NMDA-receptors (up to 10,0 ng/ml) were observed on 3-4th day in cases of acute ischemic strokes on the background of chronic alcohol encephalopathy caused by intoxication or dismetabolism with their retention up to 10-14th day.

Исследования последних лет расширили представления о метаболических аспектах патогенеза ишемического инсульта. Установлено, что острое развитие церебральной ишемии «включает» каскад биохимических реакций, которые в конечном итоге приводят к гибели определенных типов мозговых клеток.

В рамках теории «экскайтотоксичности» развиваются и аргументируются представления о том, что избыточное высвобождение возбуждающих нейротрансмиттеров (глутамата и аспартата) является ключевым звеном патогенеза многих заболеваний ЦНС, в том числе острого нарушения мозгового кровообращения, и обуславливает запуск биохимических реакций, ведущих к деструкции мембранных нервных клеток [2, 5, 8–10, 13].

Одним из начальных звеньев в цепи биохимических нарушений является дестабилизация клеточных мембран и встроенных в них рецепторов. На моделях экспериментальной церебральной ишемии показана важная роль глутаматных *NMDA*-рецепторов во включении нейрохимических механизмов острого нарушения мозгового кровообращения [14].

Разработка метода определения в крови содержания аутоантител к фенциклидинсвязывающему мембранныму белку, одному из компонентов глутаматных *NMDA*-рецепторов головного мозга, открыла перспективы клинического направления исследований по определению его диагностической значимости при острых нарушениях мозгового кровообращения [3, 4, 6].

Установлено, что повышение титра аутоантител к фенциклидинсвязывающему мембранныму белку в сыворотке крови служит проявлением аутоиммунной реакции организма на нарушения обмена белковых компонентов глутаматных рецепторов. Получены данные о диагностической и прогностической значимости высоких титров ААТ к глутаматным рецепторам кайнат-квискалатного типа при эпилепсии [7, 11, 12].

В исследованиях Е.И. Гусева и соавт. [3] установлена связь между существенным повышением титров ААТ к *NMDA*-рецепторам в сыворотке крови (до $5,83 \pm 1,4$ нг/мл) и тяжестью состояния больного в первые часы развития острой ишемии. Снижение его на протяжении 1-х суток было сопоставимо с благоприятным прогнозом течения острой ишемической болезни в ближайшие 2–3 нед. В случаях летального исхода отмечено опережение резкого снижения титров ААТ к *NMDA*-рецепторам до $0,9 \pm 0,15$ нг/мл.

В настоящей работе представлены результаты исследования титров ААТ к *NMDA*-рецепторам в крови больных в разные фазы (1–4, 5–7, 8–14-е сутки—до 28-х суток) острого периода нарушений мозгового кровообращения по ишемическому и геморрагическому типу.

Выбор соответствующих групп больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения определялся современными представлениями о различиях патогенетических механизмов острой церебральной геморрагии и острой церебральной ишемии. Исходя из этого группа больных с острой церебральной геморрагией рассматривалась в качестве контрольной, характеризующейся грубыми нарушениями гематоэнцефалического барьера [1]. Это позволило уточнить влияние данного фактора на титры ААТ к *NMDA*-рецепторам при острых нарушениях мозгового кровообращения разного типа.

Обследовали 32 больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения в возрасте 32–66 лет (26 мужчин и 6 женщин). Острая ишемия была у 22 из них (18 мужчин и 4 женщины, средний возраст $54,7 \pm 1,4$ года), острая геморрагия — у 10 (8 мужчин и 2 женщины, средний возраст $53,0 \pm 4,4$ года). В группе больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения по типу ишемии в общей сложности было проведено 50 исследований, по типу геморрагии — 23.

Локализация очага геморрагии в правом полушарии (лобная доля, узлы основания мозга) наблюдалась у 6 больных. У 4 пациентов острая геморрагия развивалась в стволе головного мозга. Из 22 больных с нарушениями по типу ишемии у 10 процесс локализовался в бассейне левой, у 9 — правой средней мозговой артерии, у 3 — в вертебробазилярном бассейне.

Этиологическими факторами развития острых нарушений мозгового кровообращения у всех обследованных являлись артериальная гипертензия и атеросклероз сосудов головного мозга. У 6 больных развитие болезни протекало на фоне хронической интоксикационной или дисметаболической энцефалопатии вследствие хронического алкоголизма или сахарного диабета. Клинический диагноз определялся на основании анамнестических сведений, результатов клинического неврологического обследования и данных дополнительных методов исследования (компьютерная томография головного мозга, электроэнцефалография, анализ спинномозговой жидкости и др.).

Для динамического исследования клинических проявлений острых нарушений мозгового кровообращения в разные фазы острого перио-

да была использована модификация шкалы, разработанная Институтом неврологии РАМН. Карта клинического наблюдения включала оценку общего состояния больного, уровня нарушения сознания, неврологическую оценку выраженности общемозговых симптомов, наличие менингеальных знаков, выраженность двигательного дефицита и чувствительных расстройств, речевых, координаторных, глазодвигательных, бульбарных нарушений, а также оценку основных показателей системной гемодинамики — артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС). В табл. 1 обобщены результаты анализа клинических проявлений острых нарушений мозгового кровообращения по типу ишемии и по типу геморрагии с указанием числа больных с теми и иными расстройствами.

По показателю суммарного балла клинических проявлений основного симптомокомплекса острые нарушения мозгового кровообращения дифференцировали на расстройства легкой степени (от 3 до 8 баллов), средней степени тяжести (от 9 до 12 баллов), тяжелые (от 13 до 15 баллов) и крайне тяжелые (более 15 баллов).

Для исследования титров ААТ к *NMDA*-рецепторам брали 100 мкл крови из вены или из пальца, центрифугировали при комнатной температуре, полученную сыворотку хранили при 4°C не более 2 нед. Анализ сыворотки проводили с помощью стандартного твердофазного иммуноферментного метода (*ELISA*). Определяли содержание аутоантител к изолированному и очищенному фрагменту *NMDA*-рецепторов.

Опытная партия диагностических наборов “*Cerebral Ischemia test*” была произведена в Институте мозга человека РАН. Основным компонентом тест-системы являются фрагменты изолированных из мозга человека *NMDA*-рецепторов, иммобилизованные на поверхности 96-луночного полистиролового планшета. В ходе испытаний образцы сыворотки крови пациентов и здоровых лиц вносили в лунки микропланшетов. Контролем служили иммуноглобулины класса G, выделенные из кроличьей поликлональной антисыворотки к фрагменту *NMDA*-рецептора, которую вносили в лунки планшета параллельно с исследуемыми образцами в концентрации от 0,1 до 400 нг/мл. Планшеты инкубировали в течение 1 ч при $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$. Уровень связывания с иммуногенным фрагментом *NMDA*-рецептора определяли по стандартной методике твердофазного иммуноферментного анализа, используя кроличьи антитела к иммуноглобулинам человека, меченный пероксидазой хрина. Иммунный комплекс определяли по цветной пероксидазной реакции с суб-

Таблица 1. Клинические проявления острого нарушения мозгового кровообращения

Симптомы и синдромы	Число больных			
	по ишемическому типу		по геморрагическому типу	
	абс.	%	абс.	%
Общее состояние:				
удовлетворительное	13	59,0	3	30,0
средней тяжести	7	32,0	3	30,0
тяжелое	2	9,0	1	10,0
крайне тяжелое	—	—	3	30,0
Общемозговые симптомы:	10	45,0	10	100,0
головная боль	2	9,0	5	50,0
головокружение	2	9,0	1	10,0
тошнота	3	13,5	2	20,0
рвота	3	13,5	4	20,0
Расстройства сознания	2	9,0	6	60,0
Менингеальные симптомы	2	9,0	4	40,0
Расстройства речи:	12	55,0	6	60,0
дизартрия	5	23,0	5	50,0
афазия моторная	5	23,0	1	10,0
афазия сенсорная	1	4,5	—	—
афазия тотальная	1	4,5	—	—
Глазодвигательные расстройства	—	—	6	60,0
Бульбарный синдром	2	9,0	6	60,0
Двигательные расстройства:	22	100,0	9	90,0
центральный гемипарез	19	96,0	9	90,0
центральный тетрапарез	1	9,0	—	—
гемиплегия	1	9,0	—	—
Чувствительные расстройства	14	63,0	5	50,0
Патологические знаки	20	91,0	7	70,0
Расстройства зрения	1	9,0	1	10,0
Нарушение высших психических функций	3	13,5	—	—

Таблица 2. Сравнительная оценка тяжести состояния больных (по среднему суммарному баллу) и значений титров ААТ к NMDA-рецепторам в крови при разных формах острых нарушений мозгового кровообращения

Типы острых нарушений мозгового кровообращения	Число исследований	Средний балл тяжести ($M \pm m$)	Средние значения титров ААТ, нг/мл ($M \pm m$)
По геморрагическому типу	18	14,5±1,33*	1,28±0,31*
в том числе с атонической комой, интоксикационной энцефалопатией	5		2,18±0,30*
По ишемическому типу	42	8,4±0,81*	1,89±0,17*
в том числе с хронической алкогольно-интоксикационной и дисметаболической энцефалопатией	11		4,86±0,98*

* Различия с контролем на уровне $p < 0,01$ (по критерию Стьюдента).

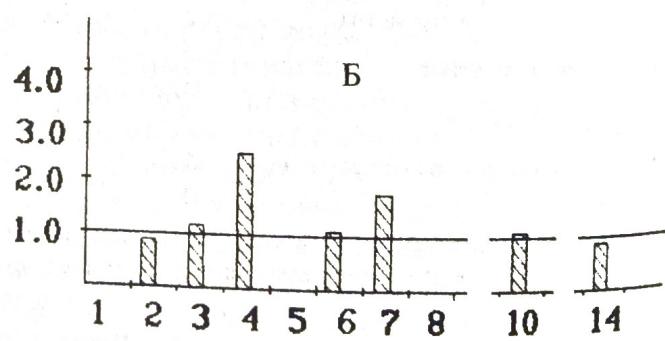
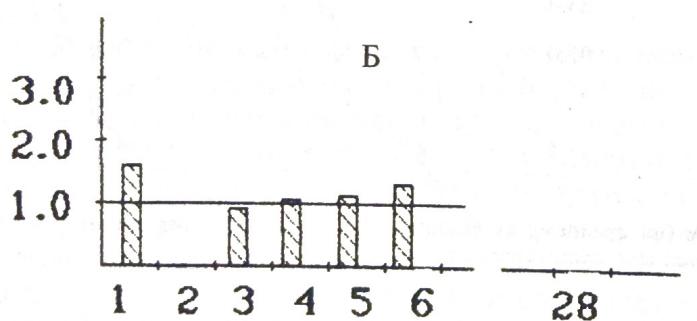
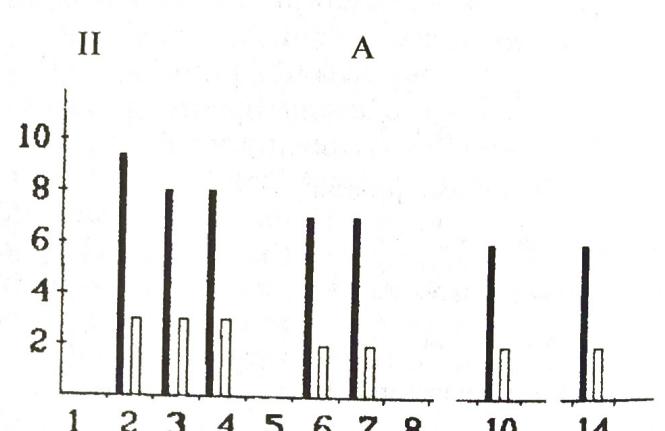
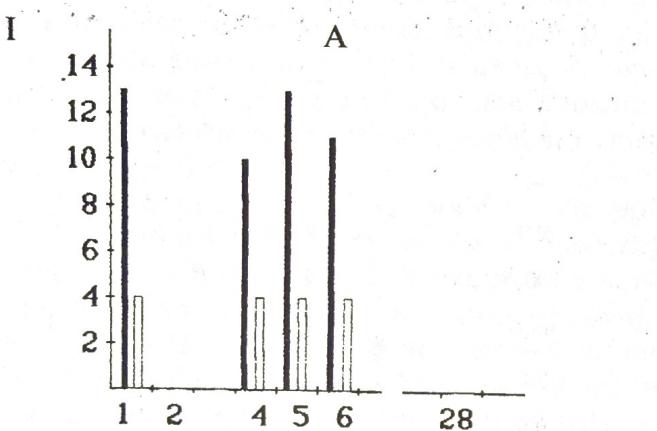
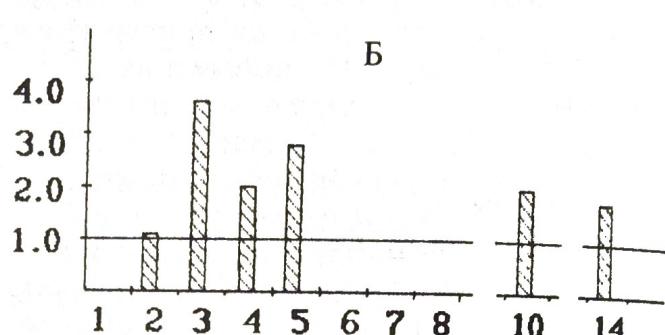
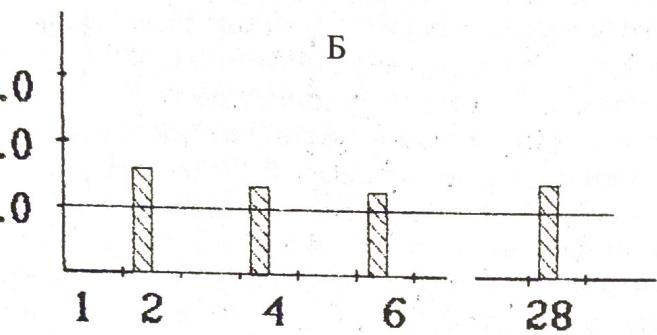
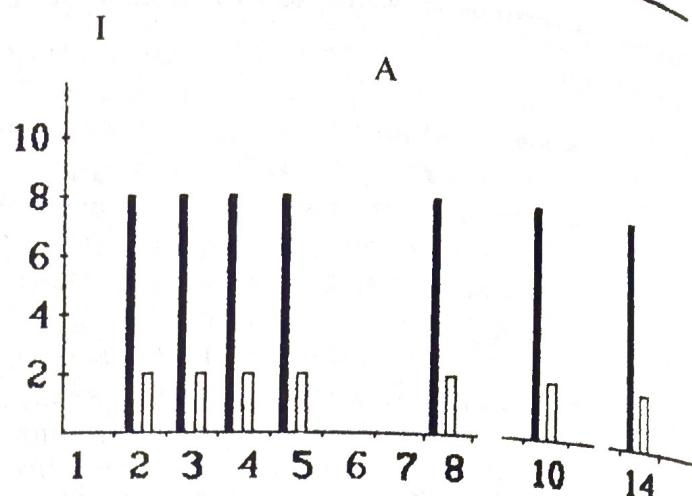
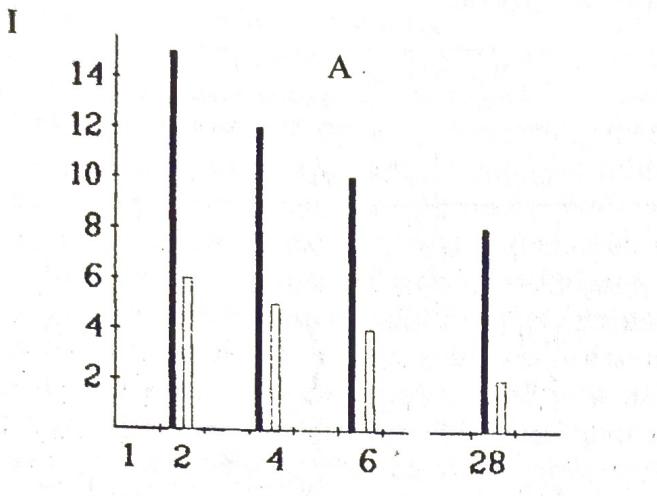


Рис. 1. Динамика основных клинических проявлений (А) и титров ААТ к NMDA-рецепторам (Б) у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения по типу геморрагии. Здесь и на рис. 2 и 3 по оси абсцисс — сутки исследования, по оси ординат: А — средний суммарный балл основных клинических проявлений, Б — титры ААТ к NMDA-рецепторам, нг/мл. I — больной Е., 59 лет, с поражением в вертебробазилярном бассейне вследствие разрыва аневризмы (гипертоническая болезнь III стадии); II — больной Г., 63 года, с нарушениями в бассейне левой средней мозговой артерии (гипертоническая болезнь III стадии); III — больной Д., 46 лет, с поражением в области ствола головного мозга (гипертоническая болезнь III стадии, летальный исход на 6-е сутки).

Рис. 2. Динамика основных клинических проявлений (А) и показателей титров ААТ к NMDA-рецепторам (Б) у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения по типу ишемии.

I — больной Г., 63 года, с нарушениями в бассейне левой средней мозговой артерии (гипертоническая болезнь III стадии); II — больной Е., 59 лет, с нарушениями в бассейне левой средней мозговой артерии (гипертоническая болезнь II стадии); III — больной Д., 46 лет, с поражением в области ствола головного мозга (гипертоническая болезнь III стадии, летальный исход на 6-е сутки).

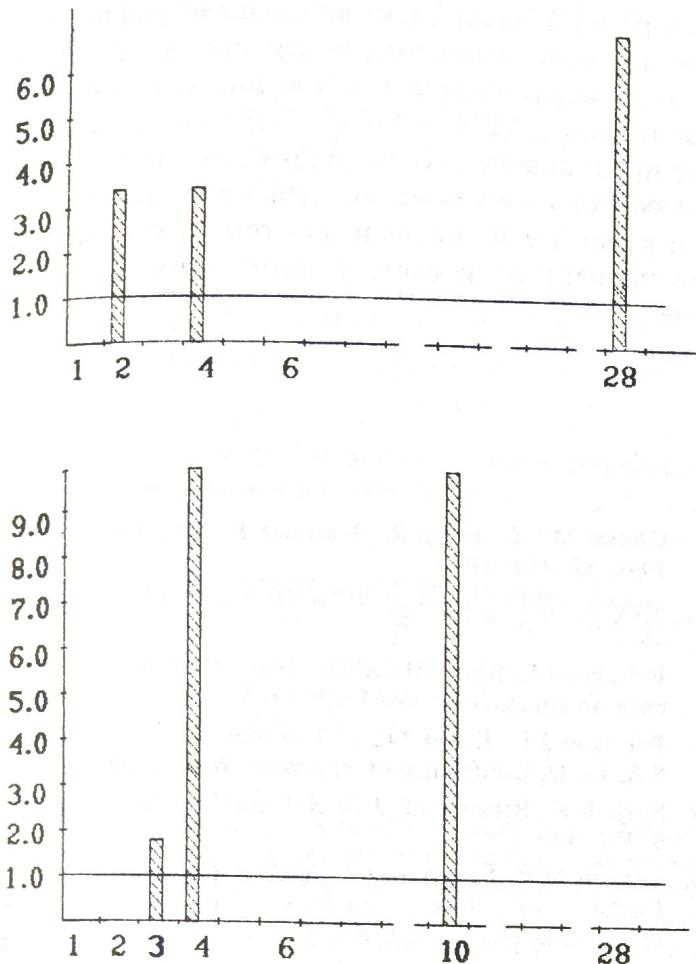


Рис. 3. Динамика титров ААТ к NMDA-рецепторам в разные сроки острого периода ишемического инсульта на фоне алкогольной интоксикационной энцефалопатии и хронического алкоголизма.

I — больной С., 49 лет, с нарушениями кровообращения в бассейне правой средней мозговой артерии (гипертоническая болезнь III стадии, хронический алкоголизм, интоксикационная энцефалопатия, алкогольный делирий); II — больной К., 55 лет, с нарушениями кровообращения в бассейне левой средней мозговой артерии (гипертоническая болезнь III стадии, атеросклероз сосудов головного мозга, интоксикационная энцефалопатия, хронический алкоголизм).

стратом — ортофенилендиамином. Отсчет результатов проводили с помощью многоканального спектрофотометра "Dinatech" (Англия) по величине поглощения растворов при $\lambda = 492$ нм. Строили калибровочную кривую для контроля, откладывая по оси абсцисс концентрацию антител, по оси ординат — величину оптической плотности. Концентрацию аутоантител в образцах крови определяли по калибровочной кривой на основании величин получаемых оптических плотностей [6].

При острой церебральной геморрагии состояние 7 из 10 обследованных было тяжелым (см. табл. 1). При этом у них преобладали низкие титры ААТ к NMDA-рецепторам — от 0,95 до 1,6 нг/мл; среднее значение по группе не превышало $1,28 \pm 0,31$ нг/мл (табл. 2).

Среди больных с нарушениями по типу ишемии у 59% (13 из 22) в те же сроки заболе-

вания отмечалось удовлетворительное состояние, что нашло отражение в существенном снижении среднего суммарного балла основных клинических проявлений (см. табл. 2). Для этой группы был характерен более широкий размах колебаний титров ААТ к NMDA-рецепторам — от 0,95 до 10,0 нг/мл. Среднее значение этого показателя по группе лиц с острым ишемическим инсультом вследствие гипертонической болезни и церебрального атеросклероза составляло $1,89 \pm 0,17$ нг/мл. Существенно выше была средняя величина титров ААТ к NMDA-рецепторам у больных с острым ишемическим инсультом, развившимся на фоне хронической алкогольно-интоксикационной или дисметаболической энцефалопатии, — $4,86 \pm 0,98$ нг/мл (см. табл. 2).

При динамическом исследовании в разные фазы острого периода острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу наблюдалась устойчивость низких значений титров ААТ к NMDA-рецепторам, которая сохранялась и при регрессе основных неврологических симптомов (рис. 1). У больных с ишемическим инсультом выявлено два типа динамики титров ААТ. В случае развития острой церебральной ишемии вследствие гипертонической болезни и атеросклероза сосудов головного мозга отмечались волнобразные изменения титра — от $2,23 \pm 0,53$ нг/мл в 1-е сутки до $3,24 \pm 0,90$ нг/мл на 3—4-е сутки и последующими флюктуациями при менее выраженным нарастании к 7—8-м суткам (рис. 2).

При развитии острого нарушения мозгового кровообращения по типу ишемии на фоне хронической алкогольной интоксикационной или дисметаболической энцефалопатии высокие титры ААТ к NMDA-рецепторам (до 10,0 нг/мл) выявлялись на 3—4-е сутки и удерживались на этом уровне до 10—14-х суток. У некоторых больных этой группы высокие титры ААТ появлялись в более поздние сроки — на 28—35-е сутки (рис. 3).

Таким образом, выявлены закономерные различия значений титров ААТ к NMDA-рецепторам у больных в остром периоде острого нарушения мозгового кровообращения по типу геморрагии и по типу ишемии. Это позволяет исключить влияние на данный показатель нарушений гематоэнцефалического барьера при острой церебральной ишемии. Обнаруженные тенденции в изменениях значений титров ААТ к NMDA-рецепторам в разные фазы острого периода ишемического инсульта и острой церебральной геморрагии дополняют полученные ранее данные [4] и могут быть использованы при диагностике и прогнозировании течения разных

типов острого нарушения мозгового кровообращения.

Значительное повышение титров ААТ к *NMDA*-рецепторам у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения, развившимся на фоне дисметаболической или интоксикационной энцефалопатии, по-видимому, прежде всего обусловлено нарастанием явлений раздражения в головном мозге, что подтвержда-

ется результатами электроэнцефалографии. Установленные закономерности ориентируют на дальнейшее изучение диагностической значимости титров ААТ к *NMDA*-рецепторам, углубление представлений о нейрохимических механизмах острого нарушения мозгового кровообращения разной этиологии и патогенеза как основы для оптимизации схем лечения этих заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганнушкина И.В. Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений головного мозга. М 1974; 200.
2. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга. Академия речь. М 1992.
3. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Изыженова Г.А., Дамбинова С.А. Журн невропатол и психиатр 1996; 5.
4. Дамбинова С.А. Нейрорецепторы глутамата. Л 1989; 144.
5. Choi D.W. Neuron 1988; 1: 623–634.
6. Dambinova S.A. et al. European Patent Bulletin 93/36 1993; WO. 93/00586.
7. Dambinova S.A., Gromov S.A., Polyakov J.I., Horshev S.K. In: IX Conference on epilepsi. Warsaw 1994; 95.
8. Ginsberg M.D. In: New Strategies to prevent neural damage from ischemic stroke. Boston Marriot Cambridge 1994.
9. Globus M.Y.T., Busto R., Martinez E. et al. J Neurochem 1991; 57: 470–478.
10. Meldrum B.S., Garthwaite J. Trends Neurosci 1990; 11: 379–387.
11. Polyakov J.I., Kissin M.Ja., Dambinova S.A. In: IX Conference on epilepsi. Warsaw 1993; 69.
12. Polyakov J.I., Kissin M.Ja., Izykenova G.A., Dambinova S.A. In: IX Conference on epileptisi. Warsaw 1994; 97.
13. Siesjo B.K., Bengtsson F. J Cereb Blood Flow Metabol 1989; 9: 127–140.
14. Verheul H.B. Experimental Cerebral Ischemia. Temporal Evolution of ischemic Cell Death. CIP-Data koninklijke bibliotheek, Den Haag ISBN 90-393-0592-7, 1994; 168.

Поступила 22.04.96