

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИН

УДК 616.831-005.4:577.175.82

КУЛЕШ Сергей Демьянович

НЕЙРОАКТИВНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ
В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА
(клинико-экспериментальное исследование)

14.00.13 — нервные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Гродно — 1997

Работа выполнена в Гродненском государственном медицинском институте и Институте биохимии НАН.

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

член-корр БАН, профессор

Гордеев Я. Я.

кандидат биологических наук,

ведущий научный сотрудник

Канунникова Н. П.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,

Профессор

Недзведзь Г. К.

доктор медицинских наук,

академик БАН, профессор

Евстигнеев В. В.

Оппонирующая организация — Белорусский государственный институт усовершенствования врачей.

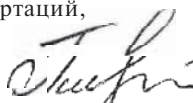
Защита диссертации состоится «26» ноября 1997 года в 14 часов на заседании специализированного совета по защите диссертаций К 03.17.03 при Гродненском государственном медицинском институте по адресу: 230015, г. Гродно, ул. Горького, 80.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Автореферат разослан «25» октября 1997 года

Ученый секретарь совета по защите диссертаций,

доктор медицинских наук



Л. А. Пирогова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. В настоящее время острые цереброваскулярные заболевания являются важнейшей неврологической, общемедицинской и социальной проблемой (И.П. Антонов, 1996; Н.В. Верещагин, 1996). Для развитых стран мира характерна высокая заболеваемость мозговым инсультом (Н.В. Верещагин, Ю.Я. Варакин, 1996; R.P. Gillum, 1995), причем в последние годы в Республике Беларусь сохраняется ее рост. Согласно статистическим данным, в 1995 г. заболеваемость по данной нозологии в республике была на уровне 261,9, а в 1996 г. — 302,9. Не менее 30% больных в острой стадии инсульта погибает (Е. И. Гусев и соавт., 1995). В последние годы в Беларуси наблюдается увеличение смертности от нарушений мозгового кровообращения: в 1995 году показатель смертности был равен 171, а в 1996 году увеличился до 174,5. В структуре смертности больные с мозговым инсультом занимают третье место в республике. Среди выживших больных большая часть не может вернуться к работе и нуждается в постороннем уходе (Е.И. Гусев и соавт., 1995). Инвалидность от нарушений мозгового кровообращения в Беларуси в 1995 г. составила 4.32 на 10 тыс. населения (Л.С. Гиткина, 1995).

Ишемический инсульт (ИИ) — наиболее распространенная форма острых стойких нарушений мозгового кровообращения, составляющая от 60 до 90% всех инсультов (В.Е. Смирнов, 1991). Несмотря на многочисленные исследования, проблема патогенеза, диагностики и лечения этого заболевания не может считаться окончательно решенной (Е.И. Гусев, 1992; Н.В. Верещагин, 1996; В.К. Siesjö, 1995).

В последние годы раскрыты новые биохимические механизмы, способные оказывать влияние на повреждение мозга при ИИ. Эксперименты на животных показали, что церебральная ишемия на определенном этапе сопровождается накоплением во внеклеточном пространстве ткани мозга аминокислот, имеющих медиаторные свойства (S.H. Graham et al., 1990; K. Matsumoto et al., 1993; T.P. Obrenovitch, D.A. Richards, 1995), Глутамат и аспартат, оказывающие возбуж-

дающее действие на **постсинаптическую** мембрану, в **избыточных** концентрациях вызывают «шоковое раскрытие» ионных каналов и грубый дисбаланс Ca^{2+} , K^+ и других ионов (D.W. Choi, 1987), что рассматривается как ключевое звено патогенеза повреждения и гибели мозга при ишемии (S.M. Rothman, J.W. Olney, 1986; H. Benveniste, 1991; B.K. Siesjo, 1992).

Соединения, являющиеся **антагонистами** возбуждающих **аминокислот** или препятствующие их **постипшемическому** высвобождению, в экспериментальных условиях показали способность оказывать защитное действие (B. Meldrum, 1990; M.J. Leach et al., 1993; I. Belayev et al., 1995; C.M. Maier et al., 1995) и тем самым открывают новое направление в лечении инсульта (K.W. Muir, K.R. Lees, 1995). Перспективность данного терапевтического подхода при **острой** ишемии мозга обсуждается в работах белорусских **неврологов** (И.П. Антонов, 1996).

В исследовании **метаболизма** возбуждающих и тормозных **нейроактивных** аминокислот (НАК) у больных с ишемическими поражениями мозга сделаны только самые первые шаги. В литературе имеются лишь единичные статьи зарубежных авторов по **данной** проблеме (R. Vinokur et al., 1995; K. Kanthan et al., 1995; J. Castillo et al., 1996), не позволяющие с **клинических** позиций решить вопрос о значимости нарушений метаболизма НАК в патогенезе ИИ человека и необходимости применения **препаратов**, регулирующих их обмен. Кроме того, отсутствуют сведения по **диагностической** значимости **показателей** метаболизма НАК. Изложенные сведения позволяют заключить, что изучение различных аспектов метаболизма НАК у больных ИИ является перспективным и весьма актуальным.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Работа выполнена в соответствии с планом НИР Гродненского **мединститута** и является частью НИР «Клинико-нейрохимические сопоставления в остром периоде ишемического инсульта» (номер **госрегистрации** 1996920).

Цель и задачи исследования. Цель исследования — установить патогенетическую, диагностическую и прогностическую значимость нарушений метаболизма нейроактивных аминокислот в остром периоде ишемического инсульта.

В соответствие с поставленной целью определены следующие задачи.

1. Изучить метаболизм НАК в ткани головного мозга на экспериментальной модели ИИ.
2. Исследовать закономерности формирования пула НАК плазмы крови в условиях острой экспериментальной сосудистой патологии головного мозга.
3. Исследовать содержание аминацидергических медиаторов в спинномозговой жидкости (СМЖ) у больных в остром периоде ИИ,
4. Изучить закономерности формирования пула НАК плазмы крови в остром периоде ИИ.
5. Сопоставить клиническую картину инсульта с пулом НАК СМЖ и плазмы крови больных

Научная новизна полученных результатов. Впервые проведены исследования метаболизма НАК в ткани головного мозга и плазме крови на экспериментальной модели церебральной ишемии, приближенной к острому периоду инсульта у людей. Определены закономерности взаимоотношений возбуждающих и тормозных НАК в остром периоде экспериментального инсульта. Впервые проведено сопоставление нарушений метаболизма указанных соединений в нервной ткани и плазме крови экспериментальных животных.

Впервые современным чувствительным методом ВЭЖХ исследован весь спектр НАК (включая свободную ГАМК) в СМЖ и плазме крови больных ИИ. Определены закономерности взаимоотношений НАК в остром периоде данного заболевания. Впервые сопоставлены сдвиги метаболизма указанных соединений в СМЖ и плазме крови больных инсультом.

Впервые установлен факт выхода ГАМК при ИИ из ткани головного мозга в плазму крови с повышением ее концентрации выше контрольного уровня.

На основании **изучения** метаболизма НАК в группе лиц с риском инсульта установлены **определенные** общие патогенетические механизмы острой и хронической цереброваскулярной **недостаточности**. Впервые сопоставлена клиническая картина острого периода ИИ с состоянием пула НАК СМЖ и плазмы крови больных. Выявлены взаимосвязи между глубиной неврологического дефицита, динамикой заболевания и нарушениями метаболизма исследованных соединений.

Практическая значимость полученных результатов. Полученные данные по метаболизму НАК при экспериментальной и клинической ишемии мозга позволяют признать нецелесообразным применение в патогенетической терапии ИИ **препаратов**, являющихся антагонистами возбуждающих аминокислот, в сроки, **превышающие 24 часа** от начала заболевания.

Определение концентрации ГАМК в плазме крови больных является новым способом лабораторной диагностики инфаркта мозга при **цереброваскулярных** заболеваниях. Определение **концентрации** глутамата, аспартата, таурина и глутамина в СМЖ и плазме крови является новым способом прогнозирования вероятного исхода острого периода инсульта и позволяет своевременно корректировать общую схему лечения заболевания.

Использование комплекса исследованных биохимических показателей в лечебно-диагностическом процессе у больных ИИ позволяет повысить эффективность оказываемой медицинской **помощи**.

Изучение в плазме крови уровней НАК среди «здоровой» популяций и у лиц с хронической цереброваскулярной недостаточностью является диагностическим тестом, подтверждающим системное сосудистое заболевание и **определяющим** фактор риска развития ИИ.

Использованная нами экспериментальная модель острой ишемии головного мозга является наиболее адекватной для изучения метаболизма НАК в клинике ИИ у людей.

Экономическая значимость полученных результатов. Обоснование новых **методов** диагностики и прогнозирования течения ИИ, новых подходов к

дифференцированному лечению больных в остром периоде инсульта, что позволит снизить смертность и инвалидизацию данной категории больных.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту. I В исследованном периоде (одни сутки) экспериментального ИИ в ткани головного мозга животных отмечаются компенсаторные изменения метаболизма ПАК, направленные на снижение нейротоксического действия возбуждающих аминокислот. Обмен данной группы соединений в плазме крови не отражает указанные защитные сдвиги.

2. Характер нарушений метаболизма ПАК у больных ИИ определяется не только очаговыми изменениями вследствие возникновения зоны инфаркта, но и предшествующим системным сосудистым заболеванием, на основе которого происходит инсульт.

3 В исследованном периоде ИИ в СМЖ больных отмечается значительный дисбаланс уровней аминацидергических медиаторов. Изменения абсолютных концентраций данных соединений в ликворе при инсульте менее выражены, их направленность соответствует изменениям в ткани головного мозга при экспериментальной ишемии мозга.

4. Повышение концентрации ГАМК в плазме крови больных ИИ является следствием нарушения компартментализации и некроза в головном мозге и может считаться признаком инсульта.

Личный вклад соискателя. Литературный и патентный поиск и анализ по теме исследования, разработка и осуществление экспериментальной модели ИИ на животных, отбор больных для опытной и контрольных групп, их клиническое обследование, определение плана лечебно-диагностического процесса, контроль за динамикой заболевания и эффективностью лечения, заполнение карт обследования больных выполнены непосредственно соискателем. Определение содержания свободных аминокислот в биологических пробах проведено совместно с научным сотрудником Института биохимии РАН Е.М. Дорошенко. Остальные био-

химические исследования, составление базы данных, их статистическая обработка и анализ проведены лично автором.

Апробация результатов диссертации. Основные положения диссертации доложены на: Международном симпозиуме «Физиологические и биохимические основы деятельности мозга» (Санкт-Петербург, 1994); Международной конференции в рамках 3-го неврологического научного обмена (Минск, 1994); Международном симпозиуме «Аминокислоты и их производные» (Гродно, 1996), съезде Европейской федерации неврологических обществ (Прага, 1997); межфакультетском заседании Гродненского медицинского института и лабораторий коферментов и аналитической биохимии Института биохимии НАК (Гродно, 1997); клинической конференции сотрудников НИИ неврологии, нейрохирургии и физиотерапии МЗ РБ (Минск, 1997); выездной 92-й научной сессии НИИ неврологии, нейрохирургии и физиотерапии МЗ РБ совместно с заседанием правлений Республиканского и Гродненского областного научных обществ неврологов (Сморгонь, 1997); Международной научной конференции, посвященной 85-летию Гродненской городской клинической больницы № 1 им. З.П. Соловьева (Гродно, 1997).

Опубликованность результатов. По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, выводов, списка использованных источников (169 наименований), приложения. Работа изложена на 95 страницах машинописного текста, содержит 6 рисунков и 22 таблицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная модель острой ишемии мозга. Эксперименты поставлены на 16 белых беспородных крысах-самцах массой 100—150 г, содержащихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Ишемию мозга вызывали перевязкой на 24 часа левой общей сонной артерии (Э.Н. Попова, Ф.А. Яхин, 1994). Контрольным животным наносили операционную травму без перевязки сосуда.

Клиническая характеристика обследованных больных. Обследовано 105 больных **ишемическим инсультом**, находившихся на стационарном лечении в неврологическом отделении для больных с нарушением мозгового кровообращения 1-й городской клинической больницы г. Гродно. Среди них было 60 мужчин (57,1%) и 45 женщин (42,9%) в возрасте от 41 до 80 лет (средний возраст $60,8 \pm 10,2$ лет). Больные обследовались клиническими, инструментальными и лабораторными **методами**, осматривались смежными **специалистами**. Этиологическими факторами **инсульта** являлись церебральный атеросклероз, гипертоническая болезнь и их сочетание. Очаг поражения локализовался у 53 больных в левом полушарии у 41 — в правом полушарии и у 11 больных — в области стволово-мозжечковых структур головного мозга. Все **обследованные** больные имели длительность заболевания до 72 часов, средняя длительность составила $32,1 \pm 21,7$ часа.

Для проведения клиничко-биохимических сопоставлений все больные ИИ были разделены на подгруппы по выраженности клинических признаков и динамике инсульта. Тяжесть заболевания оценивали с помощью унифицированной 50-ти балльной шкалы неврологического дефицита психоресанимационного больного с вычислением суммарного клинического балла (Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 1990). Согласно данной шкале, степень тяжести заболевания **расценивали** как тяжелую при суммарном клиническом балле до 36 (34 больных), средней тяжести — при 36—43 баллах (54 больных), и легкую — при суммарном клиническом балле более 43 (17 больных).

Глубину нарушений сознания у больных ИИ определяли согласно классификации А. Н. Коновалова и соавт. (1982). Первую подгруппу составили 14 человек, которые на момент первичного обследования были в ясном сознании. Во вторую подгруппу вошли 68 пациентов, у которых при поступлении имелись симптомы оглушения, и в третью — 23 больных в состоянии сопора или **комы**.

Двигательные расстройства в конечностях оценивали по балльной системе (Л.Г. Столярова и соавт., 1982). По глубине двигательных расстройств и с учетом

распределенности признака в группе все больные были разделены на 3 подгруппы. В первую вошли 40 человек с легкими двигательными расстройствами (0—5 баллов). Вторую подгруппу составили 35 больных с выраженными двигательными расстройствами, у которых итоговая сумма оценки составила 6—9 баллов. Третья подгруппа представлена 30 больными ИИ с симптомами гемиплегии.

По динамике инсульта на 15 сутки пребывания в стационаре больные были распределены на 3 подгруппы: с положительной динамикой со стороны неврологического статуса, без положительной динамики, умершие.

В первые сутки пребывания в стационаре в фиксированные утренние часы у больного забирали СМЖ и кровь.

21 больной дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ) II стадии (на почве церебрального атеросклероза и гипертонической болезни) в возрасте 54—81 лет и 21 больной с неврологическими синдромами остеохондроза позвоночника (НСОП) в возрасте 21—58 лет составили две контрольные группы.

Биохимические методы исследования. В гомогенате пораженного полушария головного мозга и плазме крови крыс, а также в СМЖ и плазме крови больных определяли содержание свободных ПАК (глутамат, аспартат, ГАМК, глицин, таурин) и родственных соединений (глутамин, аспарагин). Для этого использовали метод ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией аминокислот с о-фталевым альдегидом и 2-меркаптоэтанолом, изократическим разделением производных в обращеннофазной системе и их амперометрическим детектированием (Е.М. Дорошенко, 1994; Ye.M. Doroshenko, 1994). В работе использовали жидкостный хроматограф Waters.

В ткани пораженного полушария головного мозга и плазме крови экспериментальных животных, а также плазме и СМЖ неврологических больных определяли активность ряда ферментов, участвующих в метаболизме ПАК. На спектрофлуориметре Hitachi F-4010 измеряли активность глутаматдекарбоксиаза (ГДК, НФ 4.1.1.15) по методу L.T. Graham, M.H. Aprison (1969), ГАМК-аминотрансферазы (НФ 2.6.1.19) и дегидрогеназы янтарного полуальдегида (НФ

1.2.1.24) — методом Th. De Boer, J. Bruinvels (1977). Для определения активности редуктазы янтарного полуальдегида (НФ 1.1.1.61) применяли спектрофотометрический метод (S.R. Whittle, AD Turner, 1981; J. A. Cromlish, T. C. Flynn 1985), в работе использовали спектрофотометр Specord M-40. Белок определяли по методу E.P. Hartree (1972).

Статистическая обработка данных проведена на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного экспериментального исследования установлено, что острая 24-часовая односторонняя окклюзия общей сонной артерии у крыс приводит к снижению концентрации возбуждающих НАК: глутамата (на 38%) и аспартата (на 53%) в ткани гомолатерального полушария головного мозга, в то время как достоверных сдвигов содержания других аминокислот отмечено не было. Указанные изменения рассматриваются нами как защитные, препятствующие работе механизма нейротоксичности возбуждающих аминокислот.

Отмечается значительное изменение характера корреляций между уровнями НАК в ткани головного мозга животных опытной группы, прежде всего касающихся связей возбуждающих аминокислот с другими соединениями, а также нарушения корреляций тормозных медиаторов и β -аминокислот.

Установлено, что в данной экспериментальной ситуации отмечается статистически достоверное изменение активности всех исследованных ферментов. Активность ГДК, катализирующей превращение глутамата в ГАМК, возрастает в ткани мозга опытных животных на 15%. Одновременно в данной группе животных наблюдается снижение на 37% активности ГАМК-аминотрансферазы, катализирующей распад ГАМК с образованием глутамата, и снижение на 37% активности дегидрогеназы янтарного полуальдегида, обеспечивающей включение продуктов данной реакции в цикл Кребса. Активность редуктазы янтарного полуальдегида, обеспечивающей восстановительный путь превращения янтарного

полуальдегида с образованием γ -оксимасляной кислоты, напротив, повышается на 36%.

В указанных сдвигах ферментативной активности также прослеживается **саногенетическая** направленность. Прежде всего, тормозится образование глутамата с ограничением процесса его внеклеточного накопления, который токсичен для нервной ткани. Одновременно стимулируется образование ГАМК, способной ослабить повреждающий эффект избыточных концентраций глутамата и аспартата. Кроме того, усиливается синтез γ -оксимасляной кислоты, **которая** снижает потребность ткани в кислороде при имеющемся уровне энергообеспеченности, что по данным М. Mamclak (1989) играет **существенную** роль в **защите** мозга от

Нами установлено, что при ишемии мозга крыс, вызванной **односторонней** перевязкой общей сонной артерии на 24 часа, в плазме крови **отмечается** рост концентрации глутамата (на 83%) и аспартата (на 123%). Содержание других НАК и **активность** ГДК в плазме крови существенно не **изменились**. Одновременно отмечается значительное **нарушение** взаимосвязей концентраций в фонде НАК плазмы крови крыс опытной группы.

Сопоставление результатов исследования **ткани** головного мозга и плазмы крови животных с экспериментальным ИИ свидетельствует, что характер изменений метаболизма НАК в этих двух тканях различен.

В **результате** проведенного биохимического исследования СМЖ больных опытной и контрольной групп нами установлено (табл. 1), что сдвиги в фонде НАК у больных ИИ и ДЭ во многом носят сходный характер, отличающий данных больных от пациентов с поражением периферической нервной системы. Одновременно установлено, что в указанном периоде ИИ в СМЖ больных не наблюдается повышенной концентрации возбуждающих и тормозных медиаторных аминокислот, отмеченной исследователями в первые минуты и часы экспериментальной ишемии мозга. Более того, у больных инсультом, по сравнению с

больными ДЭ, достоверно снижен уровень глутамата (на 28%) и его амидированной формы (на 25%).

Таблица 1

Содержание НАК в ЦСЖ больных (мкмоль/л, для ГАМК — нмоль/л)

Аминокислота	Г р у п п ы б о л ь н ы х		
	ИИ	ДЭ	НСОП
Глутамат	$2,20 \pm 0,17^*$	$3,04 \pm 0,44$	$1,97 \pm 0,31$
Аспаргат	$2,44 \pm 0,20^{**}$	$2,82 \pm 0,45^{**}$	$1,60 \pm 0,14$
ГАМК	$107 \pm 9,00$	105 ± 187	$82,3 \pm 8$
Глицин	$3,61 \pm 0,18$	$3,44 \pm 0,40$	$4,05 \pm 0,54$
Таурин	$1,77 \pm 0,17$	$1,54 \pm 0,14$	$1,69 \pm 0,19$
Глутамин	$389 \pm 22,1^*$	$521 \pm 66,5$	$379 \pm 40,9$
Аспарагин	$0,96 \pm 0,11^{**}$	$1,53 \pm 0,43^{**}$	$0,30 \pm 0,10$

* — $p < 0,05$ по отношению к группе ДЭ; ** — по отношению к группе НСОП

Мы полагаем, что это связано со стадийностью патогенетических процессов развития ишемических повреждений. Повышение внеклеточной концентрации НАК — феномен первой стадии, стадии энергодефицита и обратимых изменений. В исследованном нами периоде патологический процесс перешел на стадию формирования очага инфаркта, с присущей ему зоной некроза и зоной нестойкости (ишемической полутени). Очевидно, что на данном этапе болезни пиковые сдвиги медиаторного пула НАК сглаживаются, и он приходит в относительное равновесие с метаболическим пулом данных соединений, состояние которого изменяется менее существенно и по другим закономерностям. Предположение подтверждается сопоставлением собственных данных о содержании НАК в ликворе больных ИИ и мозге крыс с острой ишемией мозга (Рис. 1)

Нами установлено, что характерным проявлением острого периода инсульта является выраженный дисбаланс уровней НАК в СМЖ больных, который про-

является В значительном **изменении** распределенности корреляций между **концентрациями** указанных соединений, причем сходном **при острой** и хронической недостаточности мозгового кровообращения (ИИ и ДЭ). В то же время группа больных инсультом **характеризуется** рядом дополнительных **сдвигов**: появляется отрицательная корреляция **глутамат-тирозин**, нарушаются корреляции аспартата с тормозными медиаторами глицином и таурином, взаимосвязь концентраций **глицина и таурина**, появляется положительная связь концентраций ГАМК-аланин и отрицательная — таурин-аланин.

Изменения концентрации НАК в плазме крови больных ИИ по направленности не повторяют изменения в СМЖ. В частности, отмечается рост содержания ГАМК на 102% и таурина на 33%, а также иной, по сравнению с СМЖ, характер корреляций между уровнями исследованных соединений. Учитывая, что

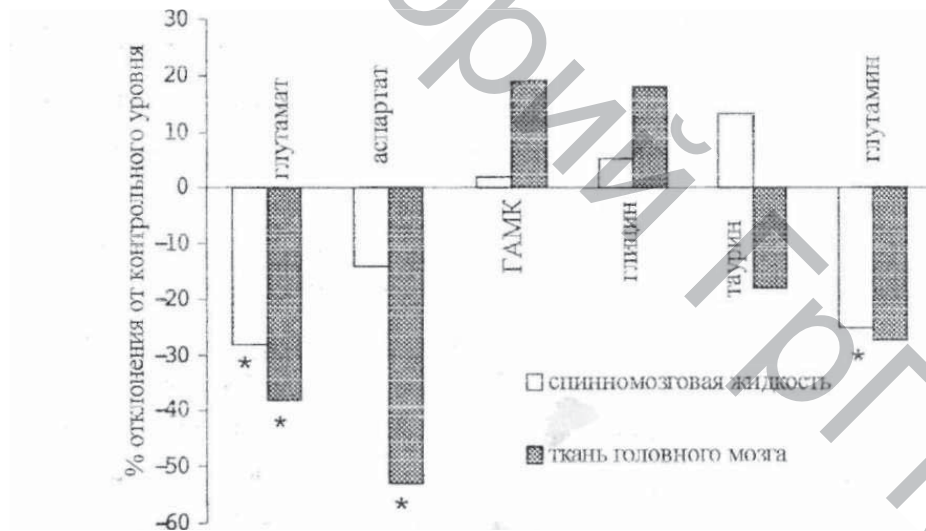


Рис. 1 Соотношение сдвигов концентрации НАК в ткани головного мозга животных с экспериментальной ишемией мозга и СМЖ больных ИИ.

Представлены относительные уровни. * — достоверность отличия от контроля.

высокоспецифичной для мозговой ткани аминокислотой (Н.А. Сытинский, 1972) и в норме в плазме крови определяется в низких концентрациях, становится очевидным, что наблюдается выход этого соединения из пораженных областей головного мозга в кровь, и это может считаться признаком инсульта.

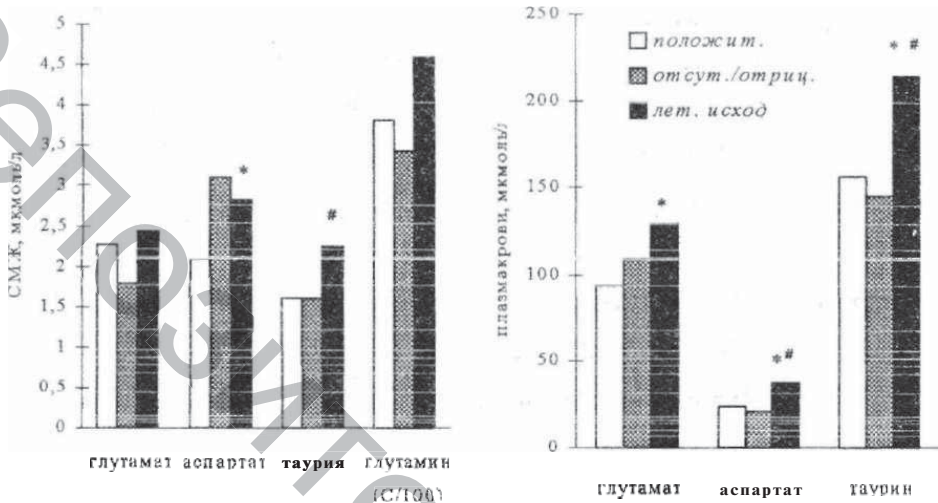
При сопоставлении клинической картины ИИ с состоянием фонда ПАК в СМЖ и плазме крови больных установлено, что содержание ПАК в ликворе больных ИИ существенно не различается в зависимости от тяжести инсульта, глубины нарушения сознания, степени пареза конечностей и локализации очага поражения. Исключение составляет уровень глутамата в СМЖ при тяжелом инсульте, который был достоверно ниже, чем при среднетяжелом ИИ. Это, по-видимому, связано с асинапсией и торможением метаболических процессов в обширных участках мозга.

В плазме крови больных с тяжелым ИИ, по сравнению со среднетяжелым, отмечается повышение уровня глутамата, а уровень ГАМК в плазме увеличивается с ростом тяжести поражения.

Нарушением сознания (сопор или кома) характеризовался повышенными уровнями глутамата, аспартата и ГАМК по сравнению с остальными больными инсультом. Больным опытной группы с симптомами гемиплегии был свойствен высокий уровень аспарагина плазмы крови по сравнению с пациентами, имевшими парезы конечностей. При этом концентрация таурина в плазме больных с выраженными парезами была выше остальных больных опытной группы.

Прогностическая значимость показателей метаболизма ПАК определена путем их сравнения в подгруппах по исходу ИИ на 15 сутки заболевания (Рис. 2).

Установлено, что в подгруппе больных, у которых наступил летальный исход заболевания, повышен уровень аспартата и таурина в СМЖ, а также глутамата, аспартата и таурина в плазме крови. Это позволяет выделить высокие исходные уровни данных соединений в качестве прогностически неблагоприятных в отношении вероятного исхода заболевания.



- — $p < 0,05$ по отношению к подгруппе с положительной динамикой.
- # — $p < 0,05$ по отношению к подгруппе без положительной динамики.

ВЫВОДЫ

1. Острая 24-часовая церебральная ишемия у экспериментальных животных приводит к снижению в ткани головного мозга содержания возбуждающих нейроактивных аминокислот глутамата и аспартата. Одновременно наблюдается повышение активности ферментов, обеспечивающих превращение глутамата в тормозной медиатор ГАМК и ингибирование ферментов деградации ГАМК с образованием глутамата. Пул свободных аминокислот в ткани головного мозга в условиях экспериментальной ишемии характеризуется выраженным дисбалансом нейроактивных соединений.

2. В плазме крови животных с экспериментальной церебральной ишемией достоверно повышено содержание возбуждающих нейроактивных аминокислот — глутамата и аспартата, а также нарушены взаимосвязи концентраций как возбуждающих, так и тормозных нейроактивных соединений. Сдвиги метаболизма

нейроактивных аминокислот в ткани головного мозга и плазме крови имеют различную направленность.

3. Острый период ишемического инсульта характеризуется понижением концентрации глутамата и его амидированной формы с выраженным дисбалансом уровней аминацидергических медиаторов и родственных соединений в спинномозговой жидкости больных. Изменения концентраций и распределенности корреляций нейроактивных аминокислот в ликворе больных при острой и хронической цереброваскулярной недостаточности во многом носят сходный характер, что свидетельствует об общности патогенетических механизмов при данном варианте патологии нервной системы,

4 В плазме крови больных в остром периоде ишемического инсульта достоверно повышена концентрация ГАМК и таурина с нарушением корреляций уровней свободных аминокислот. Повышение уровня ГАМК в плазме крови больных инсультом и появление взаимосвязи с концентрациями В-аланина, серина, гистидина, тирозина и фосфотаноламина являются следствием процессов нарушения компартментализации и некроза в головном мозге при данном заболевании.

5. Установлена достоверная зависимость нарушений метаболизма нейроактивных аминокислот в плазме крови от глубины органического дефицита нервной системы в исследованном периоде инсульта. Тяжелый инсульт (менее 36 баллов по шкале I усева и Скворцовой) сопровождался высоким уровнем* глутамата и ГАМК.

6. Высокий уровень глутамата, аспартата, таурина и глутамина в спинномозговой жидкости и плазме крови больных в острой фазе ишемического инсульта является прогностически неблагоприятным фактором в отношении исхода заболевания.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Медиаторные аминокислоты при ишемии головного мозга // Акт. вопр. невропатол. и нейрохирургии: Сб. научн. трудов — Минск, 1994. — С. 80—82.
2. Glutamic acid decarboxylase (GAD) ш blood plasma and liquor of patients with Браш ischemia // Physiol. biochem. basis of brain activity: Abst. ш1. symp. — 81 Petersburg, 1994 — P. 85 (co-authors Kanunnikova N. P., Sozinov O. V.).
3. Metabolism о Г neuroactive amino acids ана its drug correction in Брат ischemia // Third neuropatology international scientific exchange: Abstracts. — 1994 — P. 15 (co-authors Kanunnikova N. P., Doroshenko Ye. M.).
4. Ферменты метаболизма гамма-аминомасляной кислоты при экспериментальной ишемии мозга / Инст. биохимии АН Беларуси, Гродненский гос. мед. инст. — Гродно, 1996. — 10 с. — Деп. в ВИНТИ 06.02.96, № 426-B96 (соавт. Канунникова Н.П., Созинов О.В.).
5. Свободные аминокислоты в спинномозговой жидкости: методологические подходы к определению и перспективы диагностического применения // Аминокислоты и их производные (химия, технология, биохимия, фармакология, питание, медицина): Тезисы докладов международного симпозиума. — Гродно, 1996. — С. 48 (соавт. Дорошенко Е.М.).
6. Free атто acids т C8P: methodological approaches to their determination ана possible diagnostical value // Атто acids ана derivatives (chemistry, technology, biochemistry, pharmacology, nutrition, medicine): Abstracts оГ the international symposium. — Grodno, 1996. — P. 32 (co-author Doroshenko Ye. M.).
7. Levels of free GABA, other neuroactive атто acids ш cerebrospinal fluid оГ patients тот neurological disorders // Украинский биохимический журн. — 1996. — Т. 68, № 5. — С. 89—94 (co-author Doroshenko Ye. M.).
8. Free neuroactive атто acids т C8P of the ischemic stroke patients // Europ. J. Neurol.: Abstracts of the Meeting оГ the European Federation оГ Neurological Societies. — 1997. — Vol 4, Suppl. 1. — P. 94 (co-author Шрозбенко Ye. M.).

Резюме

Кулеш Сергей Демьянович

Нейроактивные аминокислоты в остром периоде ишемического инсульта (клинико-экспериментальное исследование)

Ключевые слова: ишемический **инсульт**, нейроактивные аминокислоты, патогенез, диагностика, прогнозирование.

В ткани мозга и плазме крови крыс после 24-часовой односторонней окклюзии общей сонной артерии, а также в **спинномозговой** жидкости (СМЖ) и плазме **крови 105** больных **острым** ишемическим инсультом (ИИ) методом ВЭЖХ исследовали содержание возбуждающих и тормозных нейроактивных аминокислот (НАК) и ферментов их метаболизма.

Установлено, что в ткани пораженного полушария мозга животных **сниже-**на концентрация возбуждающих **аминокислот** и наблюдается выраженный дисбаланс исследованных соединений. Повышена активность ферментов **превраще-**ния глутамата в ГАМК и снижена активность **ферментов** деградации ГАМК с образованием глутамата.

В СМЖ больных ИИ отмечается значительный дисбаланс НАК и снижение концентрации глутамата и глутамина. Направленность метаболических нарушений в плазме крови больных ИИ иная (по сравнению с СМЖ): наблюдается повышение концентрации ГАМК, которое **коррелирует** с тяжестью инсульта. У больных с летальным исходом заболевания отмечались высокие первоначальные уровни глутамата, аспартата, таурина и глутамина в СМЖ и плазме крови.

Полученные результаты уточняют патогенез ИИ и показания к **примене-**нию в его лечении антагонистов возбуждающих аминокислот, обосновывают новые методы **диагностики** и прогнозирования течения данного **заболевания**.

Рэзюмэ

Кулеш Сяргей Дзям'янавіч

Нейраактыўныя амінакіслоты у вострым перыядзе
ішэмічнага шсульта (клініка-эксперыментальнае даследаванне)

Ключавыя словы: ішэмічны шсульт, нейраактыўныя амінакіслоты, патагенез, дыягностыка, прагназаванне

У ткані мозгу і плазме крыві пацуюкоу пасля 24-гадзіннай аднабаковай аклюзіі агульнай соннай артэрыі, а таксама у спіннамазгавой вадкасці і плазме крыві 105 хворых на востры ішэмічны шсульт (ІІ) метадам ВЭВХ даследавалі узровень узбуджаючых і тармажных нейраактыўных амінакіслот (НАК) і ферментаў іх метабалізму.

Устаноўлена, што у ткані нашкодванага паўшар'я мозгу жывел зжжана канцэнтрацыя узбуджаючых амінакіслот і назіраецца прыкметны дысбаланс даследаваных злучэнняў. Надвышала актыўнасць ферментаў пераутварэння глутамату у ГАМК і зжжана актыўнасць ферментаў дэградацыі і АМК з утварэннем глутамату.

У СМВ хворых ІІ назіраецца значны дысбаланс НАК і паніжэнне канцэнтрацыі глутамату і глутаміну. Накіраванасць метабалічных парушэнняў у плазме крыві хворых на ІІ іншя (у параўнанні з СМВ): адзначаецца павышэнне канцэнтрацыі ГАМК, якое карэлюе з цяжарам інсульту. У хворых з летальным зыходам захворвання адзначаліся высокія пачатковыя узроўні глутамату, аспартату, таўрыну і глутаміну у СМВ і плазме крыві.

Атрыманыя вынікі удакладняюць патагенез ІІ і паказанні да прымянення у яго лячэнні антаганістаў узбуджаючых амінакіслот, абгрунтоўваюць новыя мсгды дыягностыкі і прагназавання цяжэння гэлага захворвання.

Summary

Kulesh Sergey Demyanovich

Neuroactive amino acids in acute period of ischemic stroke

(clinical and experimental study)

Key words: ischemic stroke, neuroactive amino acids, pathogenesis, diagnosis, prognostication.

Concentrations of excitatory and inhibitory neuroactive amino acids (NAA) and enzymes of their metabolism were determined by HPLC in brain tissue and blood plasma of rats after 24-hour unilateral occlusion of the common carotid artery, in the cerebrospinal fluid (CSF) and blood plasma of 105 patients with acute ischemic stroke (18)

It was established that the content of excitatory amino acids in the altered hemisphere brain tissue is reduced and marked disbalance of assay compounds is observed. The activity of enzymes which transform glutamate to GABA is decreased and the activity of enzymes of GABA degradation and glutamate formation is increased.

There is essential NAA disbalance in the CSF of IS patients and decreased concentration of glutamate and glutamine. The direction of metabolic disturbances in blood plasma of IS patients is another (in comparison to CSF): the rise of GABA concentration is observed which correlates with the stroke severity. In patients with fatal outcome high initial CSF and plasma levels of glutamate, aspartate, taurine and glutamine are registered.

The results obtained verify IS pathogenesis and indications for apply in its treatment of excitatory amino acid antagonists, motivate new methods of diagnosis and prognostication of this disease course.