

А.М. Цейтлин, А.Ю. Лубнин, В.Л. Зельман\*, Ш.Ш. Элиава

## ИШЕМИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ МОЗГА

*Similia similibus curentur.*

*Гуннокрам*

Все есть яд, и все есть лекарство, потому что  
только доза делает яд ядом, а лекарство лекарством.

*Парацельс*

НИИ нейрохирургии  
им. Н.Н. Бурденко РАМН  
125047, Москва,  
4-я Тверская-Ямская ул., д.16,  
info@nsi.ru

\* Университет Южной  
Калифорнии, Лос-Анджелес,  
США

УДК 616  
ВАК 14.01.20

© А.М. Цейтлин, А.Ю. Лубнин,  
В.Л. Зельман, Ш.Ш. Элиава,  
2010

Большие и малые дозы какого-либо агента или стимула могут вызывать противоположно направленные эффекты. Практически любой стимул, способный причинить повреждение, будучи примененным в дозе, близкой к порогу этого повреждения, но не достигающей его, способен защитить орган (ткань) от последующей ишемии. Janoff [1964] для обозначения этого феномена ввел термины «толерантность» и «прекондиционирование», которые часто используют как синонимы.

Под ишемической толерантностью (прекондиционированием) понимают короткий сублетальный для клеток эпизод ишемии, активирующий защитные эндогенные механизмы, которые обеспечивают переносимость органом (тканью) последующих, более длительных и более тяжелых периодов ишемии [Kirino, 2002]. Другое определение: ишемическая толерантность – это преходящее состояние повышенной устойчивости органа (ткани) к ишемическому повреждению, обусловленное активацией эндогенных адаптивных механизмов. Иногда под ишемическим preconditionированием понимают саму процедуру воздействия стимула, индуцирующего стресс для клеток, тканей или органов, но не вызывающего их повреждения, с тем чтобы уменьшить повреждение, обусловленное тяжелым повреждающим стимулом.

Впервые феномен ишемического preconditionирования в миокарде был описан Murry [1986]. В последующем ишемичес-

кое preconditionирование было продемонстрировано в легких, печени, почках, скелетных мышцах. Ишемическое preconditionирование в мозге было описано Kitagawa и др. [1990]. Несмотря на значительное количество работ (более 3500 с 1986 г. для миокарда и более 450 для мозга с 1991 г.), клиническое применение ишемического preconditionирования на настоящий момент является весьма противоречивым вопросом. Предложенный обзор представляет собой попытку анализа информации об ишемическом preconditionировании в свете возможного применения для защиты головного мозга.

### **Первые работы, обосновывающие существование ишемического preconditionирования в головном мозге**

Большинство авторов считает, что феномен ишемического preconditionирования впервые был открыт в миокарде [пионерская работа Murry и др., 1986; обзор Meldrum, 1987]. Это мнение можно оспаривать: Dahl и Balfour [1964] установили, что короткий эпизод глобальной аноксии (полного прекращения поступления кислорода) может значительно увеличить продолжительность жизни крыс при последующей длительной аноксии. В мозге preconditionированных животных медленнее снижалась концентрация АТФ, что могло быть обусловлено стимуляцией анаэробного гликолиза. В 1986 г. Schurr и др. продемонстрировали способность мозга взрослых крыс адаптироваться к аноксии на модели гиппокампальных срезов. Толеран-

тность была инициирована экспозицией гиппокампальных срезов к короткому (5 мин) эпизоду аноксии. Электрическая активность срезов, экспонированных к короткому эпизоду аноксии, восстановилась после продолжительной аноксии, в то время как в контрольных срезах (без предварительной экспозиции) такого восстановления не произошло. Пионерная работа об ишемическом прекодиционировании в миокарде собак была опубликована в том же году [Murry и др., 1986]. Вскоре после этого была описана способность краткосрочной гипертермии защищать мозг от последующей очаговой ишемии, но на тот момент феномен не был расценен как ишемическое прекодиционирование [Chopp и др., 1989].

Тем не менее почетный титул первооткрывателя церебрального ишемического прекодиционирования принадлежит Kitagawa [1990]. Его группа проводила эксперименты на песчанках (пустынные грызуны, популярные лабораторные и домашние животные). Ишемия мозга в этой экспериментальной модели вызывается окклюзией обеих сонных артерий в течение 5 мин, что всегда приводит к отсроченной гибели нейронов области СА1 гиппокампа (наиболее чувствительных к ишемии нейронов мозга). Если продолжительность окклюзии уменьшить до 2 мин, то это снижает содержание высокоэнергетических фосфатов и нарушает синтез белка в мозге, но никогда не приводит к некрозу нейронов. Когда за 24 или 48 ч до 5-минутной ишемии вызывали ишемию продолжительностью 2 мин, то большинство нейронов области СА1 выживало. Когда за 48 ч до 5-минутной ишемии ишемию продолжительностью 2 мин проводили дважды (с интервалом 24 ч между эпизодами), то выживали практически все нейроны области СА1. Интересно, что продолжительность эпизодов ишемии и интервалов между ними приходилось устанавливать экспериментально: так, не оказывала защитного эффекта ни краткосрочная ишемия продолжительностью 1 мин, ни два эпизода ишемии по 2 мин, разделенные слишком коротким промежутком времени. Так как без предшествующей краткосрочной ишемии большинство нейронов области СА1 погибает, авторы сделали вывод, что краткосрочный сублетальный (для нейронов) эпизод ишемии может обеспечить ишемическую толерантность. Эта статья привлекла очень много внимания, поскольку обусловленная таким методом защита гиппокампальных нейронов СА1 была наиболее эффективным среди когда-либо предложенных способом нейропротекции.

После этой классической работы многочисленные эксперименты подтвердили полученные результаты. В настоящее время известен ряд высокодоказательных и воспроизводимых экспериментальных моделей ишемической толерантности мозга [Kirino, 2002; Dirnagl, 2003]. Обретение толерантности является преходящим феноменом: для его развития требуется 24 ч, оно длится около 7 дней и в течение 14 дней сходит на нет [Kitagawa, 1991]. Существование ишемической толерантности в мозге

было доказано не только у песчанок, но также у крыс и мышей. Ишемическая толерантность развивалась у новорожденных животных после прекодиционирования *in utero*. Kitagawa продемонстрировал, что ишемическое прекодиционирование не ограничивается гиппокампом, но распространяется также на кору больших полушарий, базальные ганглии и таламус [1991]. Ишемическая толерантность была продемонстрирована при культивировании нейронов *in vitro*, а также в препаратах срезов мозга [Sakaki и др., 1995; Bruer и др., 1997].

#### **Ишемическое прекодиционирование в моделях очаговой ишемии головного мозга**

Первые эксперименты были выполнены на моделях глобальной ишемии мозга, в то время как в клинических условиях значительную роль играет очаговая (ишемический инсульт, операции по поводу аневризм головного мозга). Поэтому ишемическое прекодиционирование было изучено в экспериментальных моделях очаговой ишемии головного мозга [Glazier и др., 1994; Kitagawa и др., 1996]. Оказалось, что ишемическое прекодиционирование (кратковременное пережатие средней мозговой или общей сонной артерии с одной стороны) уменьшает степень повреждения мозга при последующем длительном эпизоде ишемии. Интересно, что краткосрочное пережатие общей сонной артерии защищает мозг при последующем длительном пережатии как сонной, так и средней мозговой артерии. И наоборот, краткосрочное пережатие средней мозговой артерии защищает мозг при последующем длительном пережатии как средней мозговой артерии, так и сонной артерии. В настоящее время имеется техническая возможность применения МРТ у мелких лабораторных животных, что используется для изучения ишемической толерантности при очаговой ишемии. С помощью МРТ удалось продемонстрировать эволюцию инфаркта и снижение его выраженности благодаря ишемическому прекодиционированию [Mullins и др., 2001]. Ишемическое прекодиционирование ослабляет не только повреждение нейронов, но и выраженность ишемического отека мозга благодаря защитному действию на сосудистую стенку [Masada и др., 2001].

#### **Ишемическое прекодиционирование не оказывает влияния на мозговой кровоток**

Измерение мозгового кровотока показало, что ишемическая толерантность не сопровождается улучшением регионального мозгового кровотока во время или после прекодиционирующего эпизода ишемии [Matsushima, Hakim и др., 1995; Chen и др., 1996; Varone и др., 1998]. Из этого следует, что состояние ишемической толерантности обусловлено изменениями самих нейронов на клеточном уровне.

#### **Временные аспекты ишемической толерантности**

Влияние повторяющихся эпизодов ишемии мозга определяется их продолжительностью, интервалом времени между ними, а также их количеством. У песчанок одно-

кратное пережатие обеих общих сонных артерий сроком на 5 мин вызывает повреждение только четко очерченного региона в гиппокампе. Если 5-минутные эпизоды ишемии повторяются несколько раз, то это может привести к кумуляции повреждения мозга. Так, три эпизода пятиминутной ишемии (перемежающиеся реперфузией) вызывали более тяжелое повреждение головного мозга, чем один пятнадцатиминутный эпизод [Tomida и др., 1987; Vass и др., 1988]. Кумулятивное повреждение мозга было наиболее выраженным, когда промежуток между эпизодами ишемии составлял 1 ч. В модели двухсторонней окклюзии общих сонных артерий у песчанок однократная двухминутная ишемия не вызывала гистопатологических изменений в мозге, в то время как многократные эпизоды той же продолжительности приводили к тяжелому повреждению гиппокампа, таламуса и коры больших полушарий. Выраженность повреждения зависела от количества эпизодов ишемии и продолжительности интервалов между ними [Kato и др., 1989, 1991]. В модели повторяющейся односторонней окклюзии общей сонной артерии выживаемость песчанок зависела от продолжительности интервалов между эпизодами ишемии: если интервал составлял 1 ч, то через 3 недели выживало 15,4% животных, если 24 или 48 ч – 100%. Летальность была очень высока, пока интервал не превысил 3 ч [Hapuy и др., 1989]. Сходные данные о кумуляции повреждающего эффекта были получены Nakano в модели окклюзии четырех мозговых артерий у крыс [1989].

Данные этих экспериментов свидетельствуют о том, что предшествующий нелетальный для нейронов эпизод ишемии делает мозговую ткань более чувствительной (а не устойчивой) к последующему эпизоду тяжелой ишемии в том случае, если промежуток времени между эпизодами слишком короток [Ohno, Watanabe, 1996]. Немедленная индукция ишемической толерантности после прекондиционирования (спустя минуты и часы), как это возможно в миокарде, представляется маловероятной в мозге *in vivo*.

#### **Отсроченная и ранняя ишемическая толерантность**

Принято считать, что ранняя ишемическая толерантность не требует активации генома, влияющей на синтез белков, она опосредована изменением проницаемости ионных каналов, фосфорилированием и прочими посттрансляционными модификациями этих белков (т.е. влияет на уже синтезированные белки), возникает в течение минут и длится несколько часов. Напротив, отсроченная толерантность обусловлена синтезом белков *de novo*, для ее развития требуется период от одного до нескольких дней. Ишемическое прекондиционирование в мозге вызывает именно отсроченную толерантность, из чего следует вывод о необходимости синтеза новых белков для полного развития защитного эффекта. В мозге латентный период развития ишемической толерантности обычно превышает 24 ч. В пионерной работе, позволившей выявить временные характеристики ишемического прекондиционирования в мозге

[Barone, 1998], было установлено следующее: у крыс проводили временную окклюзию средней мозговой артерии продолжительностью 10 мин, после чего выполняли постоянную окклюзию спустя 2, 6, 12 ч, а также 1, 2, 7, 14, и 21 день. Защитное действие проявлялось только в том случае, когда промежуток между временной и постоянной окклюзией находился в интервале от 1 до 7 дней. Позже этот временной профиль ишемической толерантности в мозге был подтвержден во многих исследованиях.

Ранняя ишемическая толерантность характерна для миокарда. Она может быть инициирована через 1–60 мин ишемии, длится менее 3 ч и обеспечивает мощную защиту миокарда от ишемии и реперфузионного повреждения [Alkhulaifi и др., 1993; Lawson, Downey, 1993; Yellon и др., 1998]. Именно этот вид индукции ишемической толерантности применяется на практике в кардиологии – при операциях с искусственным кровообращением (наложением зажима на аорту), чрескожной коронарной ангиопластике или стентировании (с помощью раздувания баллона в коронарной артерии) [Yellon, Hausenloy, 2005].

Есть несколько работ, посвященных теме индукции ранней ишемической толерантности в мозге. В работе Schurr и др. [1986] была доказана способность мозга взрослых крыс адаптироваться к аноксии на модели гиппокампальных срезов. Толерантность была инициирована экспозицией гиппокампальных срезов к короткому (5 мин) эпизоду аноксии. Промежуток между кондиционирующим стимулом и длительной аноксией в этой и других работах на препаратах срезов мозга составляет 0,5–2,0 ч [Schurr и др., 1986; Pérez-Pinzón и др., 1996]. Следует отметить, что в подобных экспериментальных моделях срезов мозга можно оценить только краткосрочный эффект ранней толерантности и невозможно охарактеризовать жизнеспособность нейронов спустя отсроченный период времени после ишемии. В эксперименте с двухсторонней окклюзией общих сонных артерий у крыс было обнаружено, что короткий интервал (30 мин) между прекондиционирующей ишемией (2 мин) и тяжелой ишемией (10 мин) оказывает выраженное защитное действие [Pérez-Pinzón и др., 1997]. Вместе с тем необходимо отметить, что доказательства этого защитного действия можно было обнаружить только через 3 дня после ишемии, в то время как через 7 дней разница между экспериментальной и контрольной группой (без прекондиционирования) исчезала. Такая находка свидетельствует в пользу того, что даже если раннюю ишемическую толерантность и можно индуцировать в мозге, она носит эфемерный, преходящий характер и может только отсрочить гибель нейронов, но не предотвратить ее.

В экспериментальной модели очаговой ишемии у мышей, индуцированной внутрисосудистым введением монофиламентной нейлоновой нити, было обнаружено, что временная окклюзия средней мозговой артерии значительно уменьшает объем инфаркта после постоянной

окклюзии; промежуток между временной и постоянной окклюзией был 30 мин [Stagliano и др., 1999]. В этом эксперименте объем инфаркта измеряли только через 24 ч, так что судьба нейронов спустя отсроченный промежуток времени (считающийся ныне необходимым для доказательства нейропротективного действия) неизвестна.

Chan и др. [2005] изучали раннее ишемическое прекондиционирование при операциях клипирования аневризм мозга. Они оценивали влияние ишемического прекондиционирования, обусловленного временным пережатием артерии, на напряжение газов и pH в веществе мозга. Исследование проводилось у 12 больных с аневризматическим субарахноидальным кровоизлиянием. Все больные получали анестезию в соответствии со стандартным протоколом. После трепанации в вещество мозга в область зоны риска ишемии был установлен мультипараметрический датчик, измеряющий напряжение  $O_2$ ,  $CO_2$ , pH. Больным, отобраным в группу прекондиционирования, проводили временное клипирование несущей аневризмы артерии сроком на 2 мин, после чего клип снимали. Через 30 мин всем больным проводили повторное временное клипирование для выделения аневризмы. Сравнивали показатели  $PtO_2$ ,  $PtCO_2$ , pH в веществе мозга. Исходные данные были одинаковы в обеих группах, но после второго клипирования снижение  $PtO_2$  и pH было значительно медленнее в группе, где проводилось прекондиционирование. По мнению авторов, эти результаты обосновывают индукцию ранней ишемической толерантности. В этой работе отсутствует оценка морфологических и неврологических исходов как таковая, не говоря уже об оценке спустя несколько дней. Вполне вероятно, что благоприятное действие прекондиционирования либо вообще отсутствует, либо носит преходящий характер.

Можно подытожить, что на настоящий момент для мозга не получено достаточно убедительных данных в пользу возможности индукции ранней ишемической толерантности. Это отчетливо отличает реакции мозга и сердца и значительно сужает возможность экстраполировать на мозг данные, полученные в ходе кардиологических исследований ишемической толерантности.

### Перекрестная ишемическая толерантность

Поскольку обусловленное ишемией повреждение тканей является сложным каскадом, в составе которого инкорпорированы многочисленные патофизиологические события различной природы, триггером (индуктором) ишемической толерантности может быть не только ишемия, но и многие другие стимулы – гипертермия, гипоксия, воспаление, эпилепсия, механическая травма мозга и др. (таблица).

Патогенез различных патологических состояний в ЦНС имеет схожие звенья, поэтому один триггер может индуцировать толерантность к повреждающей дозе другого (перекрестная толерантность). Из этого следует, что триггеры ишемической толерантности не обязательно специфичны для ишемии, потому что молекулярный ответ клеток на повреждение стереотипен. Те же триггеры, которые индуцируют ишемическую толерантность в мозге, могут вызывать ее и в других органах. Триггеры и механизмы ишемической толерантности в разных органах, например в мозге и миокарде, имеют сходные черты. Кроме того, индукция толерантности в одном органе может распространяться на другие (дистанционное ишемическое прекондиционирование).

Прекодиционирующий ишемический стимул должен быть достаточно выраженным (чтобы индуцировать толе-

*Триггеры (индукторы) ишемической толерантности в мозге [Kirino, 2002; Dirnagl и др., 2003; Gidday, 2006; Bigdeli и др., 2007]*

#### Триггеры толерантности

##### ишемической

Сублетальная глобальная ишемия (экспериментальная модель с окклюзией обеих общих сонных артерий)

Короткая преходящая очаговая ишемия

##### перекрестной

Гипертермия (тепловой шок)

Аноксия (гипоксия)

Распространяющаяся кортикальная депрессия (угнетение активности нейронов, обусловленное локальной стимуляцией мозговой ткани, приводящей к медленно распространяющейся волне деполяризации)

Эпилепсия

Угнетение окислительного фосфорилирования (3-нитропропионат)

Свободнорадикальное окисление

Липополисахариды

Травма мозга

Цитокины

Каспазы (аспартат-специфичные цистеиновые протеазы, способствующие апоптозу клеток)

Ингаляционные анестетики (галотан, изофлуран, ксенон)

Диазоксид (препарат, повышающий ток по  $K_{ATP}$ -каналам митохондрий)

Гипербарическая оксигенация

Нормобарическая гипероксия

Гипотермия

рантность), но не в такой степени, чтобы вызывать повреждение мозга. В ходе экспериментов эффективная и безопасная «доза» стимула может быть подобрана относительно легко. В клинических условиях ее определить сложнее. Кроме того, в некоторых клинических ситуациях вызвать временную ишемию невозможно или технически сложно и неудобно. Перекрестной толерантности в числе прочего уделяется столько внимания и из-за желания найти стимул, не менее эффективный, чем ишемия, но более безопасный и удобный в применении.

Неотъемлемой чертой отсроченной ишемической толерантности в мозге является экспрессия новых генов и синтез белка *de novo* [Barone, 1988]. Группа Mary Stenzel-Poore опубликовала цикл работ, в которых исследовались ключевые закономерности генетических изменений, инициируемых прекондиционированием [Stenzel-Poore и др., 2003, 2004, 2007]. Они очень важны для понимания работы механизмов прекондиционирования. Основные выводы приведены ниже.

#### **Экспериментальная модель**

Ишемия мозга у экспериментальных животных была инициирована внутрисосудистым введением монофиламентной нейлоновой нити. Инсульт вызывали окклюзией средней мозговой артерии на 60 мин. В группе с прекондиционированием продолжительность непо-вреждающей окклюзии составила 15 мин. Исследовали несколько групп животных: только с 15-мин окклюзией (прекондиционирование), только с 60-мин окклюзией (ишемия), с сочетанием 15-мин и 60-мин окклюзии (прекондиционирование + ишемия). Промежуток между краткосрочной и длительной окклюзией составил 72 ч. Генетические исследования проводили через 3, 24 и 72 ч после начала последней окклюзии, используя для анализа тот участок коры, который в этой экспериментальной модели был защищен прекондиционированием. Из коры с помощью специальной процедуры изолировали РНК. РНК метили и гибридизировали с различными нуклеотидными последовательностями из специальной библиотеки чипов. С помощью различных методологических подходов определяли функцию экспрессированных генов.

#### **Результаты**

*Ишемическое прекондиционирование защищает мозг от длительной повреждающей окклюзии средней мозговой артерии.* В отсутствие прекондиционирования очаговая ишемия в этой модели вызывает выраженный инфаркт коры и стриатума. Ишемическое прекондиционирование уменьшает объем инфаркта на 72%, причем ограничивает его главным образом стриатумом.

*Ишемическое прекондиционирование изменяет экспрессию генов при повреждающей ишемии.* Сравнивали экспрессию генов при повреждающей ишемии без прекондиционирования и в присутствии прекондиционирования. Оказалось, что через три часа после повреждающей

ишемии экспрессия генов в этих двух группах совпадает только на 37%, а через 24 ч – еще меньше, на 17%. Иными словами, прекондиционирование приводит к тому, что реакция генома на повреждающую ишемию коренным образом меняется: подавляющая доля экспрессированных после прекондиционирования генов уникальна, т. е. не имеет ничего общего с генами, экспрессированными при тяжелой ишемии в отсутствие прекондиционирования.

*Ишемическое прекондиционирование перепрограммирует реакцию генома на ишемию.* Количество экспрессированных генов при ишемии без прекондиционирования значительно возрастает. Говоря генетическим языком, возрастает экспрессия 86% регулируемых генов. Это происходит за счет генов, продукты которых координируют иммунную и стрессовую реакцию, метаболизм, клеточный транспорт и синаптическую передачу. При ишемии с прекондиционированием картина практически обратная. Количество экспрессированных генов значительно уменьшается: снижается экспрессия 77% регулируемых генов. Это происходит за счет генов, отвечающих за метаболизм, клеточный транспорт и синаптическую передачу.

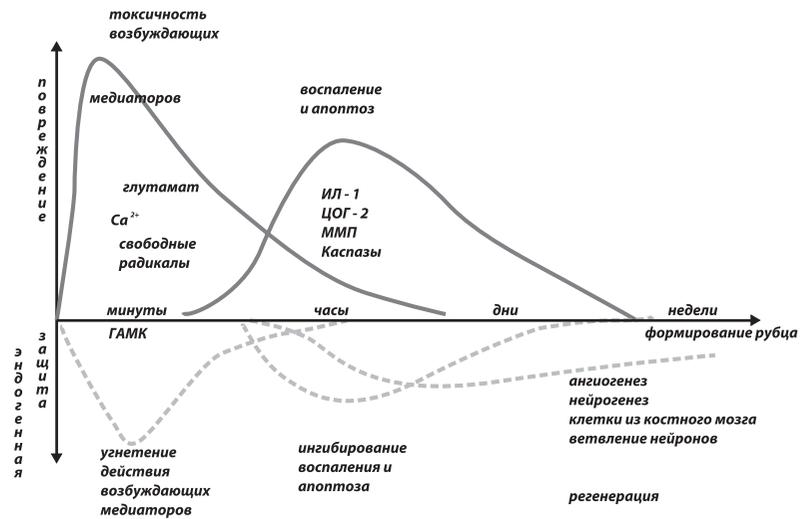
*Ишемическое прекондиционирование вызывает клеточную адаптацию, аналогичную наблюдаемой при гипернатрии и различных состояниях, характеризующихся толерантностью к гипоксии.* Прекондиционирование снижает энергетические потребности клетки и угнетает активность ионных каналов. Сходные изменения происходят у животных, пребывающих в состоянии зимней или летней спячки и анаэробноза. При этих состояниях управляемое прекращение клеточных функций сохраняет клеточный гомеостаз [Storey, 1990; Hochachka и др., 1996]. Угнетение метаболизма приводит к снижению окисления глюкозы, обмена белков и прекращению функционирования ионных каналов.

#### **Механизмы ишемического прекондиционирования в головном мозге**

Подробная дискуссия о молекулярных механизмах ишемического прекондиционирования в головном мозге выходит за рамки настоящей статьи: эта тема требует отдельной работы. Кроме того, общие принципы важнее деталей молекулярных механизмов, пусть даже и чрезвычайно важных.

Феномен ишемического прекондиционирования обусловлен существованием эндогенной системы защиты мозга от повреждения. Механизмы действия ишемического прекондиционирования практически те же, что и эндогенной нейропротекции – снижение энергетических потребностей клетки, угнетение активности ионных каналов, угнетение действия возбуждающих аминокислот, противовоспалительное действие, блокада апоптоза (рисунок). Таким образом, искусственная индукция толерантности имитирует и инициирует врожденные и филогенетически консервативные механизмы защиты мозга от ишемии.

Очаговая ишемия мозга влечет за собой сложную последовательность различных механизмов повреждения нейронов. В ответ на большинство повреждающих стимулов в мозге индуцируются защитные механизмы. В зоне инфаркта мозга деструкция превалирует над эндогенной защитой. Напротив, в зоне пенумбры мозговая ткань может быть сохранена при восстановлении перфузии (коллатеральный кровоток, спонтанный или лечебный тромболизис, ангиогенез) или благодаря воздействию эндогенных механизмов защиты. По оси X отобразено динамическое разворачивание различных патофизиологических каскадов во времени. Ось Y помогает оценить вклад каждого повреждающего (верхняя часть графика) и защитного (нижняя часть графика) элемента в конечный результат [Dimagi и др., 2003]. ЦОГ-2 – циклооксигеназа 2; ИЛ – интерлейкин; ЭПО – эритропоэтин; ММП – матриксные металлопротеиназы.



Объем инфаркта и выраженность неврологического дефекта после ишемии мозга определяется динамическим взаимодействием этих защитных механизмов с повреждающими механизмами ишемии. Эффекты эндогенной нейропротекции не столь очевидны, как смерть клетки, и изучение ее поэтому затруднено.

Триггеры (индукторы) ишемической толерантности воспринимаются сенсорами, которые через пути трансдукции запускают действие эффекторных механизмов (схема).

**Доказательства существования ишемического прекондиционирования мозга у человека**

*Транзиторные ишемические атаки*

Транзиторные ишемические атаки (ТИА) представляют собой преходящий неврологический дефицит, длящийся не более 24 ч и сопровождающийся полным восстановлением неврологических функций. Отсюда вытекает гипотеза, что ТИА могут обеспечивать ишемическую толерантность в мозге. Несколько групп изучали эту гипотезу.

Weih и др. [1999] проводили исследование у 148 больных с инсультом (37 с ТИА в анамнезе и 111 без). Медиана интервала между ТИА и инсультом была 21 день (от 6 ч до 2 лет). Они обнаружили, что при ТИА в той же сосудистой области тяжесть инсульта (оцениваемая по Канадской неврологической шкале) была меньше. Частота благоприятных неврологических исходов, оцениваемая по шкале Рэнкина и шкале исходов Глазго, в среднем через 14 мес. после инсульта тоже была лучше при ТИА в анамнезе.

Mopсауо и др. [2000] проводили исследование у 2490 больных, у которых впервые развился ишемический инсульт в районе передних отделов Вилизиева круга.

У 293 из них (12%) перед инсультом были ипсилатеральные ТИА, которые по продолжительности разделили на три группы (менее 10 мин, 10–20 мин и более 20 мин). Сравнивали тяжесть неврологической картины при поступлении и функциональные неврологические исходы. Клиническая картина при поступлении у больных без ТИА в анамнезе была тяжелее, степень угнетения сознания выше. Неврологические исходы у больных с ТИА в анамнезе были лучше. Для индукции благоприятного исхода продолжительность ТИА должна была составлять не менее 10 мин.

Из этих двух работ следует, что при ТИА в анамнезе перед инсультом выраженность симптомов при поступлении была меньше, а неврологические исходы лучше. Оставалось неясным, чем обусловлено это защитное действие ТИА. Например, ТИА могли привести к улучшению кровоснабжения или просто быть индикаторами более развитого коллатерального кровообращения. В этом случае при последующем инсульте повреждению подвергся бы меньший объем мозговой ткани, и гипотеза о том, что ТИА вызывают ишемическую толерантность в мозге, была бы несостоятельной. Необходима была более доказательная работа, которую представили Wegener и др. [2004].

Работа была проведена у 65 больных с первым ишемическим инсультом, обусловленным окклюзией одной из крупных мозговых артерий. У 16 из них в анамнезе были ТИА. Всем больным проводилось два МРТ-исследования: одно в течение 12 ч после появления неврологических симптомов, другое – контрольное, через 3–7 суток. Было обнаружено, что в обеих группах при МРТ-исследовании объем и тяжесть перфузионных расстройств, а также значения мозгового кровотока и внут-

Схема механизмов ишемического preconditionирования в мозге [Kirino, 2002; Dirnagl и др., 2003]

Триггеры\*  
Гипоксия  
Ишемия  
Воспаление  
Эпилепсия

\* более подробный перечень см. в разделе *Перекрестная толерантность*

Ранняя ишемическая толерантность (развивается в течение минут и часов; веских доказательств существования в головном мозге *in vivo* нет)

Сенсоры	Трансдукторы	Эффекторы
Аденозин A1R	K <sub>ATP</sub> -каналы, NO, протеинкиназа C α/β	K <sub>ATP</sub> -каналы

Отсроченная ишемическая толерантность (развивается в течение часов и дней; характерна для головного мозга)

Сенсоры	Трансдукторы	Эффекторы
Аденозин; A1; свободные радикалы; индуцируемый гипоксией фактор; NMDA-рецептор; транспортер возбуждающих медиаторов 1-2; гемосодержащий сенсор	Ген немедленного раннего ответа/белок теплового шока; K <sub>ATP</sub> -каналы; регулируемая внеклеточными сигналами киназа/семья серино-треониновых киназ; протеинкиназа B; фосфатидилинозитол-3-киназа; c-Jun-N-терминальная киназа; ядерный фактор κB, эритропоэтин; фактор некроза опухоли; конвертаза фактора некроза опухоли; церамид; NO; NO-синтаза; фосфорилирование белков по тирозину; протеинкиназа; p21 <sup>ras</sup> /регулируемая внеклеточными сигналами киназа; элемент цАМФ-ответа; активируемая митогеном протеинкиназа	Белок теплового шока, BCL-белки; ингибиторы свободнорадикального окисления; мозговой нейротрофический фактор, сосудисто-эндотелиальный фактор роста; угнетение активности NO-синтазы, увеличение количества ГАМК <sub>A</sub> -рецепторов; усиление высвобождения ГАМК; антагонисты рецепторов ИЛ-1, уменьшение количества субъединицы 2 глутаматного рецептора

ричерепного объема крови не различались. Иными словами, характер нарушения мозгового кровообращения был одинаков в обеих группах. Но результаты этого нарушения были различны: диффузионный дефицит (при МРТ в первые 12 часов от начала инсульта) и объем инфаркта (при МРТ через 3–7 суток) были меньше в группе с ТИА в анамнезе. Неврологический статус при поступлении в больницу у больных с ТИА в анамнезе был лучше. Неврологические исходы при выписке тоже были лучше у больных с ТИА в анамнезе. Авторы делают вывод, что эти результаты обосновывают существование ишемической толерантности в мозге человека.

#### Отсутствие симптомов гипоксии мозга у жителей высокогорья [Ночачка, 1994]

Для оценки адаптации человеческого мозга к гипоксии проводили ПЭТ мозга с меченой радиоизотопом глюкозой у индейцев племени Кечуа, живущих в Андах на высоте 3700–4900 м. Было обнаружено, что по сравнению с обычными людьми, живущими на уровне моря, потребление меченой глюкозы в 26 регионах мозга горцев было значительно снижено. Снижение метаболизма было наиболее выражено в структурах, опосредующих высшие мозговые функции (лобная кора), и

наименее – в примитивных структурах (мозжечок). Эти отличия обусловлены тем, что индейцы Кечуа всю жизнь проводят в условиях гипобарической гипоксии, являющейся стимулом для эндогенной адаптации.

#### Превентивное клипирование внутричерепных аневризм

Chan и др. [2005] показали, что временное клипирование (2 мин) за 30 мин до повторного клипирования мозговой артерии значительно замедляет снижение PtO<sub>2</sub> и рН в ткани мозга, что, по мнению авторов, обосновывает индукцию ранней ишемической толерантности. Неизвестно, в какой степени такого рода ранние метаболические различия могут повлиять на значимый исход. Такая метаболическая оценка не вполне убедительна, а оценка морфологических и неврологических исходов отсутствует как таковая, не говоря уже об оценке спустя несколько дней. Вполне вероятно, что благоприятное действие preconditionирования либо вообще отсутствует, либо носит преходящий характер.

#### Перспективы и проблемы

Хотя число работ, посвященных ишемической толерантности мозга, с 1991 г. и до сих пор уже превышает 500,

эта область пока остается относительно неизученной. Прежде чем пытаться транслировать в клинических условиях успешные экспериментальные протоколы ишемической толерантности, необходимо убедиться в их адекватности. В прошлом большинство многоцентровых исследований препаратов для лечения инсульта не показало эффективности, хотя они проводились в соответствии со строгими критериями; проблема была в различных системных ошибках экспериментальных работ, на которых базировались эти клинические испытания.

#### **Отсроченная оценка эффекта ишемического прекондиционирования**

Необходимо тщательно документировать отсроченные эффекты ишемического прекондиционирования. Следует точно знать, обеспечивает ли прекондиционирование реальную защиту мозга или просто отдалает гибель нейронов на некоторое время. Доказано, что прекондиционирование обеспечивает защиту мозга у новорожденных и взрослых животных при оценке через 2–4 недели после тяжелой ишемии мозга. С другой стороны, Corbett and Crooks [1997] показали, что со временем защитный эффект прекондиционирования угасает: через 30 дней после ишемии сохраняло жизнеспособность значительно меньше нейронов, чем через 10 дней. Конечно, неврологический исход может зависеть от характеристик экспериментальной модели: адекватности прекондиционирующего стимула, тяжести последующей ишемии, интервала между этими двумя событиями. В любом случае эффективность ишемической толерантности необходимо оценивать спустя несколько (2–4) недель после повреждения.

#### **Раннее и отсроченное прекондиционирование**

Наиболее убедительные доказательства получены относительно отсроченной толерантности мозга. Ранняя толерантность продемонстрирована в основном *in vitro*. Немногочисленные работы *in vivo* доказывают защитное действие ранней толерантности только спустя относительно непродолжительное время, отдаленные результаты неизвестны. Напротив, в отношении миокарда имеются веские и убедительные доказательства индукции ранней толерантности. Разработанные для кардиологии клинические протоколы основаны именно на индукции ранней ишемической толерантности миокарда. Из этого следует, что кардиологические протоколы прекондиционирования принципиально нельзя экстраполировать на головной мозг, как бы это ни было привлекательно, – по крайней мере, до тех пор пока не будут получены веские доказательства существования ранней ишемической толерантности в мозге. Разработка протоколов для защиты головного мозга должна базироваться на феномене отсроченного прекондиционирования.

#### **Мощность прекондиционирующего стимула**

Многие стратегии ишемической толерантности основаны на применении достаточно опасного стимула, кото-

рый титруют, так чтобы его амплитуда чуть не достигала бы повреждающего уровня. Вместе с тем четкой границы между прекондиционированием и повреждением может не существовать. Особенно труден подбор интенсивности стимула у человека. Это соображение спровоцировало интерес к изучению перекрестной толерантности и развитию новых направлений – ишемического посткондиционирования и дистанционного прекондиционирования.

#### **Повторные прекондиционирующие стимулы**

В большинстве экспериментов использовался однократный прекондиционирующий стимул, примененный за некоторое время до эпизода ишемии или гипоксии. В природе существуют примеры длительной адаптации к ишемии или гипоксии: животные, впадающие в зимнюю или летнюю спячку; млекопитающие, способные долгое время обходиться без кислорода в ходе глубоководных погружений; наконец, люди, длительное время пребывающие в высокогорье. Эти примеры позволяют предположить, что повторные многократные стимулы могут значительно усилить и пролонгировать эффекты ишемического прекондиционирования.

#### **Влияние возраста, пола, сопутствующих заболеваний и лекарственных препаратов**

Возраст, пол, сопутствующие заболевания и лекарственные препараты могут влиять на механизмы прекондиционирования [Cleveland и др., 1997; Ferdinandy и др., 1998; von Arnim и др., 2002]. Для миокарда получены доказательства, что по мере старения, а также при сопутствующем сахарном диабете эффективность прекондиционирования снижается. Ингибиторы  $K_{ATP}$ -каналов (глибенкламид) и блокаторы аденозиновых рецепторов (кофеин, аминофиллин) могут блокировать ишемическое прекондиционирование. *In vitro* не удалось продемонстрировать защиты миокарда у больных, которые принимали гипогликемические препараты – производные сульфаниламочевины.

#### **Новые направления**

Выше обсуждались проблемы с применением прямого ишемического прекондиционирующего стимула. Кроме того, в клинических условиях не всегда получается применить этот стимул превентивно. Эти два соображения дали начало двум новым подходам, отличающимся от классического ишемического прекондиционирования, – дистанционному прекондиционированию и ишемическому посткондиционированию.

#### **Дистанционное прекондиционирование**

Под дистанционным прекондиционированием понимают короткий сублетальный для клеток эпизод ишемии одного органа, защищающий другие органы от последующего длительного и тяжелого эпизода ишемии. Так, ишемия почек, кишки, печени, конечностей может индуцировать толерантность в самом органе, а также и в другом – например, в сердце. Экспериментально доказано существова-

ние дистанционного ишемического preconditionирования в моделях очаговой и глобальной ишемии мозга. В работе Vlasov [2005] в модели с окклюзией четырех сосудов у крыс выявлено только отсроченное, но не раннее дистанционное preconditionирование. В работе Dave [2006] дистанционный стимул состоял в наложении турникета на задние конечности экспериментальных животных на 15–30 мин. Помимо контрольной, еще в одной группе проводили ишемическое preconditionирование (2 мин окклюзия обеих сонных артерий). Через 48 ч была инициирована асфиксическая остановка сердца. В области CA1 гиппокампа количество нормальных нейронов при дистанционном и ишемическом preconditionировании было на 50–70% выше, чем в отсутствие preconditionирования. В этой экспериментальной модели эффективность более длительного дистанционного preconditionирования (инициированного наложением турникета на 30 мин) была такой же, как прямого preconditionирования.

Относительно недавно вышли в свет две пионерские работы, в которых доказана эффективность дистанционного preconditionирования миокарда (стимул – ишемия конечностей) в клинике при операции аортокоронарного шунтирования у взрослых и коррекции врожденных пороков сердца у детей. Использовалась модель ранней ишемической толерантности (промежуток между стимулом и ишемией около 1 ч), вероятность существования которой в мозге невелика.

#### **Ишемическое посткондиционирование**

Под ишемическим посткондиционированием понимают перерывы в ходе реперфузии после эпизода тяжелой ишемии, которые защищают мозг от повреждения и уменьшают размер инфаркта. Zhao с соавт. использовали модель постоянной окклюзии средней мозговой артерии в сочетании с временной окклюзией обеих общих сонных артерий [2006]. Через 30 с реперфузии по сонным артериям их опять пережали на 10 с. Таких циклов «реперфузия (30 с) – окклюзия (10 с)» было еще два. Объем инфаркта измеряли через 48 ч. Посткондиционирование дозозависимо снижало объем инфаркта мозга, угнетало апоптоз и свободнорадикальное окисление.

Количество работ, посвященных ишемическому preconditionированию, растет почти в геометрической прогрессии. Возможно, этот интерес обусловлен «натуральностью» методики: preconditionирование не привносит

ничего искусственного, а только активизирует эндогенные защитные механизмы. Лишь глубокое понимание механизмов ишемического preconditionирования позволит правильно определить его клинический потенциал и сформулировать протокол применения.

Возможные области применения ишемического preconditionирования мозга могут включать не только лечение инсульта, но и сосудистую нейрохирургию, в том числе эндоваскулярные вмешательства. Существование перекрестной толерантности (механическая травма защищает мозг от ишемии) дает теоретическую возможность предположить, что этот метод можно использовать в хирургии опухолей мозга и лечении черепно-мозговой травмы. Важным показанием к применению этой методики может быть защита мозга при кардиохирургических операциях с искусственным кровообращением.

Новые концепции дистанционного preconditionирования и ишемического посткондиционирования облегчают применение кондиционирующего стимула и расширяют временные рамки использования методики. Эти концепции еще очень молоды, и для определения их возможной роли в клинике требуется накопить много фактического экспериментального материала.

Представляется, что имеющийся сейчас массив данных пока недостаточно велик, чтобы сформулировать практические рекомендации по ишемическому preconditionированию мозга. Вместе с тем дальнейшее совершенствование методов защиты мозга вряд ли возможно без учета концепции ишемического preconditionирования.

**Цейтлин Александр Маркович** – кандидат медицинских наук, врач-анестезиолог-реаниматолог НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН (Москва).

**Лубнин Андрей Юрьевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением анестезиологии и реаниматологии НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН (Москва).

**Зельман Владимир Лазаревич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии Медицинской школы Университета Южной Калифорнии, академик РАМН (Лос-Анджелес, США).

**Элиава Шалва Шалвович** – доктор медицинских наук, профессор НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко РАМН (Москва).