

# Роль нейрон-астроглиальных взаимодействий в дизрегуляции энергетического метаболизма при ишемическом перинатальном поражении головного мозга

А.Б. Салмина, О.С. Окунева, Т.Е. Таранушенко, А.А. Фурсов,  
С.В. Прокопенко, С.В. Михуткина, Н.А. Малиновская, Г.А. Тагаева

Красноярская государственная медицинская академия

*Представлен обзор литературы по проблеме гипоксически-ишемического перинатального поражения головного мозга с позиции нарушения астроглиальной регуляции энергетического метаболизма нейронов и механизмов эксайтотоксичности. Детально обсуждаются особенности энергетического обмена в развивающемся мозге, обуславливающие специфику его поражения в перинатальном периоде, а также клеточно-молекулярные механизмы нарушения нейрон-астроглиальных взаимоотношений, контролирующих регуляцию нейропластичности.*

**Ключевые слова:** нейрон, астроцит, перинатальное гипоксически-ишемическое поражение, головной мозг, энергетический обмен, нейропластичность.

Гипоксически-ишемическое поражение головного мозга в перинатальном периоде представляет собой важную медицинскую и социальную проблему, оказывающую существенное влияние на многие индивидуальные особенности физической и интеллектуальной сфер развивающегося организма. По данным экспертов ВОЗ, до 65–80% патологии нервной системы у детей связано с перинатальным поражением головного мозга. В настоящее время частота перинатальной патологии в общей популяции продолжает расти [2, 3, 5]. В России в структуре заболеваемости новорожденных этот вид патологии занимает одну из лидирующих позиций и входит в число инвалидизирующих факторов вследствие развивающейся гипоксической энцефалопатии [4, 50]. Основной причиной инвалидности с детства (70%) является патология перинатального периода. Среди обследованных инвалидов-детей раннего возраста с недифференцированной патологией ЦНС гипоксически-ишемические повреждения встречаются у 23,3% [1].

В патогенезе гипоксически-ишемического перинатального поражения ЦНС ключевые события развиваются стадийно, каждый этап характеризуется определенными клеточно-молекулярными событиями: нарушение электровозбудимости нейронов, окислительный стресс, микроциркуляторные расстройства, гиперпродукция цитокинов, изменение секреции и рецепции нейротрансмиттеров, развитие апоптоза и некроза [11, 17, 28, 31, 47]. Направленная регуляция каждого из этих процессов составляет основу современной стратегии нейропротекции при перинатальном поражении ЦНС.

Несмотря на значительное количество исследований клинического и фундаментального характера, выполненных в этой области, до сих пор не разрешенными остаются многие вопросы патогенеза перинатального поражения мозга, в том числе клеточно-молекулярные механизмы повреждения клеток нейрональной и глиальной природы в развивающемся мозге, характер межклеточных взаимодействий в динамике повреждения и восстановления клеток головного мозга, молекулярные и генетические аспекты нейрогенерации, влияние особенностей реализации механизмов запрограммированной клеточной гибели на прогрессию перинатального повреждения мозга, возможность коррекции гипоксически-ишемического повреждения головного мозга за счет направленной модуляции клеточно-молекулярных механизмов нейропластичности.

В последние годы внимание исследователей привлекает изучение роли нейрон-глиальных взаимодействий в патогенезе ишемического поражения головного мозга, прежде всего в аспекте взаимодействия нейронов и астроцитов [19]. Известно, что последние, как правило, определяются в ближайшем окружении синапсов, выполняя ряд важных функций, в частности, регулируют транспорт нейротрансмиттеров, ионов, а также влияют на митохондриальную функцию нейронов за счет опосредованной гликолитической активности астроцитов и регуляции астроцит-нейронального лактатного челночного механизма, секретируют биологически активные молекулы, действующие на эндотелиоциты, микроглиоциты и нейроны [23, 34], в целом являясь детекторами и одновременно регуляторами нейрональной активности. Известны реактивные астроглиальные изменения после перенесенной перинатальной гипо-

ксии/ишемии, заключающиеся в изменении морфологии и экспрессии ряда молекул в этих клетках, а также индукции апоптоза [22, 29, 39, 56], однако до сих пор мало изучены остаются клеточно-молекулярные механизмы нарушения функции астроцитов и, соответственно, астроглиальной регуляции синаптической трансмиссии и выживаемости нейронов при ишемии. Очевидно, что понимание клеточно-молекулярных механизмов, определяющих высокую чувствительность головного мозга новорожденных к ишемии, позволит найти принципиально новые подходы к диагностике и лечению данной патологии.

### Особенности энергетического метаболизма в развивающемся мозге при ишемии

Энергетический метаболизм мозга включает в себя митохондриальную активность нейронов и клеток глии, а также процессы гликолиза, интенсивность которых определяется степенью нейрональной активности (аэробный гликолиз) или наличием гипоксически-ишемического повреждения (анаэробный гликолиз). Активность гликолиза в астроцитах соответствует энергетическим потребностям нейронов, утилизирующих лактат в качестве субстрата [44, 45].

Метаболизм глюкозы, основного источника энергии в головном мозге новорожденного, отличается от такового у взрослого человека. Известно, что уровень энергетического метаболизма коррелирует со степенью развития отдельных структур головного мозга и активностью созревающих синапсов. Помимо глюкозы энергетическим субстратом нейронов в развивающемся головном мозге могут быть лактат и кетоновые тела, при этом в раннем постнатальном периоде способность утилизировать лактат снижена [14].

Глюкоза и кетоновые тела транспортируются в головной мозг с помощью двух семейств интегральных мембранных белков – GLUTs и MCTs, соответственно. Установлено, что у новорожденных крыс уровень потребления глюкозы головным мозгом в первые недели постнатального развития составляет только 10% от такового у взрослых особей, уровень экспрессии GLUTs также достаточно низок. Однако недостаток этого источника энергии в первые две недели после рождения компенсируется другим механизмом – утилизацией кетоновых тел, что подтверждается высокой экспрессией MCT1 в гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). MCT1 в этот же период времени экспрессируется всеми остальными типами клеток нервной ткани, в отличие от белка-переносчика MCT2, который экспрессируется только нейронами [49, 50, 51]. Незрелый головной мозг обладает способностью транспортировать лактат и кетоновые тела в прямом и обратном направлении: в ткань мозга и из нее через ГЭБ. Иными словами, накопленный в ткани мозга во время гипоксии-ишемии лактат быстро утилизируется в раннюю стадию восстановления кровотока, при этом даже невыраженная гиперкетонемия, вызванная подкожными инъекциями, может обеспечить необходимый достаточный дополнительный пул энергосубстрата, способствуя защите мозга от гипоксически-ишемического воздействия. Модуляция астроцитами экспрессии GLUT1 на эндотелиоцитах в составе гемато-энцефалического барьера позволяет говорить о важной роли астроглии в регуляции транспорта глюкозы через ГЭБ [6].

Вместе с тем, исследования с использованием модели внутриутробной асфиксии у крыс показали, что содержание GLUT1 и GLUT3 и транскрипция кодирующих

их генов не меняется во время асфиксии и, таким образом, не происходит каких-либо изменений транспорта глюкозы из крови в мозговую ткань. На модели гипоксически-ишемического поражения крысят путем окклюзии средней мозговой артерии было обнаружено значительное увеличение GLUT1 mRNA через 1 час после инсульта. При унилатеральном поражении головного мозга у крыс показано, что через 4 часа после инсульта содержание белков GLUT1 и GLUT3 увеличилось в обоих полушариях на 20%, при этом параллельно повышался уровень глюкозы в обоих полушариях головного мозга [33]. Было показано, что гипергликемия в течение гипоксии-ишемии у новорожденных крыс обеспечивает протекцию, что совершенно не характерно для головного мозга взрослой особи, в котором предшлемическая гипергликемия усиливает повреждение ткани [50]. Таким образом, развивающийся мозг характеризуется несостоятельностью механизмов, транспортирующих глюкозу, что компенсируется усиленным потреблением кетоновых тел и лактата. Более того, энергетический недостаток и постоянно нарастающий уровень лактата в ткани мозга ассоциированы с процессом нейродегенерации после асфиксии.

Особенности метаболизма нейронов и астроцитов связаны на разной чувствительности этих клеток к повреждающему действию гипоксии/ишемии [59]. В целом считается, что астроциты – более устойчивые к гипоксическому повреждению клетки [48]. Несмотря на то, что повреждение астроцитов и олигодендроцитов наблюдается уже в начальном периоде ишемического повреждения мозга, особенности функционирования митохондрий нейронов и глиальных клеток способствуют большей устойчивости последних к повреждающему действию гипоксии: степень подавления активности дыхательной цепи в глиальных митохондриях значительно меньше, чем в митохондриях нейронального происхождения [10].

Весьма интересной представляется роль митохондрий в механизме нарушения энергетического метаболизма в нейронах и глиальных клетках при ишемии. Функционирование митохондрий нейронов во многом определяет характер синаптической активности и нейропластичность [30]. *In vitro* митохондрии, выделенные из ткани мозга, демонстрируют гетерогенность в их ответе на действие индукторов и блокаторов МРТ-мегаканалов митохондрий. Так, циклоспорин А обладает способностью блокировать МРТ-мегаканалы в астроцитах, но не нейронах [10]. Предполагается, что в зависимости от степени активации МРТ-мегаканалов, нарушение аэробной продукции АТФ либо лимитирует энергопотребляющие процессы в астроцитах (например, захват глутамата), либо приводит к тотальной метаболической катастрофе, ионному дисбалансу и клеточной гибели (что ассоциировано с гиперпродукцией свободных радикалов и нарушением гомеостаза кальция в митохондриях астроцитов) [27]. С учетом роли нейрон-астроцитарного транспорта лактата, важным представляется то, что открытие МРТ-мегаканалов приводит к доминированию реакций цикла Кребса над гликолитической продукцией АТФ. Вследствие этого редуцируется транспорт лактата в нейроны. Избыточная активность МРТ, имеющая своим результатом набухание митохондрий и высвобождение цитохрома С в цитозоль, помимо того, что провоцирует развитие апоптоза, способна также стимулировать анаэробный гликолиз до такой степени, что это приводит к тяжелому метаболическому

ацидозу и генерации большого количества свободных радикалов [10]. В связи с этим важно отметить, что особенностью нарушения энергетического метаболизма при перинатальном повреждении мозга является отсроченное (вторичное) нарушение энергетического обмена. В экспериментах на 7-дневных крысах с моделью унилатеральной окклюзии общей сонной артерии было показано, что основной причиной этого феномена является первичная клеточная деструкция, которая приводит к последующему энергетическому дефициту в мозге [50, 51].

Интересно, что наиболее чувствительные к гипоксии/ишемии регионы мозга характеризуются усиленным метаболизмом глюкозы: обнаружено локальное усиление метаболизма глюкозы в участке коры головного мозга и базальном ганглии у новорожденных, которые впоследствии демонстрировали тяжелый неврологический дефицит. Такого изменения обмена глюкозы не было обнаружено у новорожденных, имеющих благоприятный исход после гипоксии/ишемии. Таким образом, область усиленного метаболизма глюкозы соответствует области повреждения, выявляемой с помощью дополнительных методов исследования [57]. Подобные участки гиперметаболизма глюкозы были выявлены и у новорожденных крыс при моделировании гипоксии-ишемии. Существует предположение о том, что уровень метаболизма глюкозы тесным образом ассоциирован с активностью глутаматергических синапсов: захват глутамата астроцитами ассоциирован с  $\text{Na}^+$ -контранспортом, и предотвращение аккумуляции натрия в цитоплазме обеспечивается энергией гликолиза, а продуцируемый лактат утилизируется нейронами в качестве энергетического субстрата [44]. Это объясняет незначительные изменения в потреблении кислорода на фоне увеличения использования глюкозы и продукции лактата при стимуляции мозга.

Кроме того, такое взаимодействие имеет место в перисинаптических астроцитах, где в результате анаэробного гликолиза образуются молекулы АТФ, расходуемые на захват глутамата из синапса в астроцит и его конверсию в глутамин. Считают, что при низких концентрациях глутамата происходят энергозависимые процессы – захват и конверсия астроцитами глутамата в глутамин при высоких концентрациях, таким образом, глутамат сам выступает в качестве дополнительного источника энергии. Локальный гиперметаболизм глюкозы в головном мозге у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией после асфиксии отражает высокий уровень высвобождения глутамата в гиперактивные возбудимые синапсы в участках с избирательной чувствительностью [46].

Показано, что активность глутаматдегидрогеназы и аминотрансфераз, необходимых для конверсии глутамата в 2-оксoglутарат и дальнейший метаболизм в цикле Кребса, достаточны для того, чтобы глутамат заменил глюкозу в качестве энергетического субстрата в астроцитах. При этом при захвате умеренной концентрации глутамата (0,01–0,1 мМ) астроциты метаболизируют его до глутамина, тогда как высокие концентрации субстрата (0,2–0,5 мМ) утилизируются в цикле Кребса, т. е. при увеличении захвата глутамата астроцитами метаболизм его становится энергопродуцирующим [46]. Вместе с тем до сих пор не полностью выяснены особенности утилизации глутамата астроцитами в зоне гипоксического повреждения, ассоциированные с явлением эксайтотоксичности.

## Энергетический метаболизм и феномен эксайтотоксичности в развивающемся мозге

Ряд авторов считает, что механизм эксайтотоксичности является «ахиллесовой пятой» для развивающегося мозга, так как в нормальных условиях модулированная возбуждающая стимуляция является важным трофическим фактором для нейронов. Эксайтотоксичность обеспечивается избыточной активацией глутаматергической нейротрансмиссии и приводит к гибели клетки. На модели асфиксии у новорожденных поросят показано, что существует ранняя дегенерация и потеря астроглиального транспортера GLUT1 в стриатуме, что приводит в последующем к нейродегенеративному процессу. Таким образом, глутамат накапливается до эксайтотоксичного уровня, приводя к гиперактивации NMDA-рецепторов, что способствует увеличению концентрации кальция в цитозоле и запуску кальций-зависимых механизмов клеточной деградации.

NMDA-рецепторы обеспечивают адекватное развитие и функционирование головного мозга, повышая уровень пролиферации и миграции предшественников нейронов, а также развитие синапсов и пластичность нервной ткани. Чтобы обеспечить такое влияние, структура NMDA-рецепторов незрелого мозга отличается от таковой во взрослом мозге. Известно, что NR1 субъединица необходима для формирования функционального лиганд-зависимого ионного канала NMDA-рецептора, а специфические фармакологические и биофизические качества определяются NR2 или NR3 субъединицами. Было показано, что с развитием головного мозга экспрессия в нем NR2 субъединицы изменяется со сравнительно высокого уровня субтипа 2B в течение первых двух недель постнатального периода у крыс до превалирования субтипа 2A у взрослых особей. Такое изменение соотношения NR2A:NR2B отражает изменяющиеся свойства рецептора, в том числе увеличение тока  $\text{Ca}^{2+}$  при активации рецепторов глутаматом, что, возможно, и обуславливает повышенную чувствительность мозга новорожденного к гипоксически-ишемическому повреждению [37, 49].

Функциональные характеристики NMDA-рецепторов регулируются фосфорилированием компонентов субъединиц. Фосфорилирование тирозина NR2 субъединицы активирует ионный канал и может влиять на взаимодействие с ассоциированными с постсинаптической мембраной протеинами и ингибирующими сигнальными молекулами. Повышение активности синаптической тирозинкиназы наблюдается при нормальном созревании мозга и приводит к увеличению фосфорилирования остатков тирозина в NMDA-рецепторах. Повышение экспрессии тирозинкиназ на постсинаптической мембране представляет собой ранний ответ на гипоксию-ишемию ткани зрелого мозга. У 7-дневных крыс гипоксия/ишемия приводила к избирательному уменьшению NR2A субъединиц, но не NR2B, фосфорилирование последней активировалось на ранней стадии реперфузии. И наоборот, фосфорилирование тирозина в обеих NR2 и NR2B субъединицах усиливалось во время гипоксии/ишемии у 21-дневных крыс, в то время как падения уровня NR2A не наблюдалось, но снижалась экспрессия NR2B субъединицы через 24 часа после реперфузии. Такая взаимосвязь между соотношением субъединиц, изменением степени их фосфорилирования и свойствами NMDA-каналов представляет собой сущность комплексного механизма модуляции феномена эксайтотоксичности при гипоксии-

чески-ишемическом поражении и одновременно определяет чувствительность развивающегося мозга к избыточной глутаматергической стимуляции [50].

Экспериментально показана роль глутаматных рецепторов в повреждении белого вещества мозга недоношенных новорожденных, связанная с экспрессией рецепторов на незрелых олигодендроцитах в белом веществе, что, как считают, может составить основу для нового терапевтического подхода к лечению перивентрикулярной лейкомаляции [20, 31].

Астроциты участвуют в глутаматергической сигнализации за счет экспрессии нескольких видов молекул: ионотропных рецепторов, метаботропных рецепторов и транспортеров глутамата [32]. Функционально активные NMDA рецепторы, в основном экспрессирующие NR3 субъединицу, на кортикальных астроцитах ответственны за аккумуляцию цитоплазматического кальция в астроцитах, что важно для астроглиальной регуляции синаптической активности прилегающих нейронов, а также являются участниками механизма дегенерации олигодендроцитов и миелина после перенесенной ишемии [52]. Кроме того, экспрессия этими клетками AMPA рецепторов позволяет считать, что их активация, которая в отличие от NMDA рецепторов, развивается преимущественно при действии высоких концентраций внеклеточного глутамата, может быть особенно актуальна для реализации феномена эксайтотоксичности при ишемическом поражении [32]. С учетом того, что экспрессия глутаматных рецепторов на астроцитах носит регионспецифический характер, пока невозможно точно определить роль этого механизма регуляции нейрональной активности в генезе поражения головного мозга как у взрослых организмов, так и в развивающемся мозге.

Астроциты экспрессируют первый и второй подтипы транспортеров глутамата (EAAT) [46]. Различный уровень экспрессии глутаматных транспортеров на астроцитах в регионах мозга определяет чувствительность последних к ишемии [43]. У мышей, нокаутных по EAAT3, наблюдается процесс нейродегенерации [46]. Подавление активности EAAT2 на астроцитах негативно влияет на размер зоны повреждения мозга при ишемии и выраженность неврологического дефицита [43]. В начальной стадии ишемии астроцитарный EAAT2 захватывает внеклеточный глутамат (протективный эффект в отношении нейронов), но при увеличении продолжительности ишемии начинает превалировать высвобождение глутамата из астроцитов (потенцирование нейротоксичности) [43]. Обоснованно полагают, что захват и метаболизм глутамата астроцитами представляет собой патогенетически обоснованную мишень для нейропротективной стратегии [10]. Вместе с тем роль различных подтипов транспортеров глутамата, экспрессируемых на нейронах и глиальных клетках, в развитии повреждения головного мозга пока не идентифицирована.

Нарушение нейрон-астроцитарного механизма транспорта лактата может существенным образом сказаться на глутаматергической нейротрансмиссии. Так, было показано, что аккумуляция лактата во внеклеточном пространстве потенцирует эксайтотоксичность [55]. Коль скоро нейрональная активация подразумевает усиление захвата и метаболизма астроцитами лактата, продуцируемого нейронами, относительная сохранность астроцитарной функции в постишемическом периоде, по сравнению с нейронами, может иметь определенные последствия для межклеточных

взаимодействий: несоответствие между генерацией и утилизацией лактата и, как следствие, дисрегуляцию глутаматергической сигнализации.

Внутриклеточные сигнальные механизмы, запускаемые активированными глутаматными рецепторами, включают в себя кальций-зависимое высвобождение кальция из внутриклеточных депо, активацию NO-синтазы (nNOS), генерацию свободных радикалов, развитие митохондриальной дисфункции, высвобождение белков с проапоптотической активностью в цитоплазму из матрикса митохондрий, активацию поли(АДФ-рибозил)полимеразы. В целом механизмы нейродегенерации, обусловленные нарастанием т. н. «глутаматного удара» в развивающемся мозге, схожи с таковыми в зрелой ткани. Однако в незрелой ткани головного мозга существуют нейроны, активно продуцирующие оксид азота, но устойчивые как к гипоксии/ишемии, так и к эксайтотоксичности. Эти клетки становятся уязвимыми к таким воздействиям лишь по мере созревания мозговой ткани. В тех регионах, где экспрессируются незрелые NMDA-рецепторы (базальный ганглий), нейроны, экспрессирующие nNOS, находятся в избытке. Таким образом, чувствительность различных регионов мозга в определенный возрастной период может быть объяснена соотношением количества NMDA-рецепторов и nNOS-позитивных клеток. Предшествующее гипоксически-ишемическому повреждению разрушение nNOS-позитивных нейронов, разрушение постсинаптического комплекса в мозге новорожденного, исключение участков, ответственных за синтез NO, приводят к уменьшению ишемического повреждения и уменьшают тяжесть последствий. Необходимо отметить, что астроциты и нейроны обладают разной чувствительностью к эффектам оксида азота, что объясняется протективным действием АТФ, генерируемой гликолитическим путем в астроцитах [8].

Важным компонентом эксайтотоксичности является аккумуляция внутриклеточного кальция, приводящая к митохондриальной дисфункции в нейронах или нарушению метаболизма глутамата в астроцитах. Было показано, что в незрелом мозге нарушение внутриклеточного гомеостаза кальция является одним из ведущих механизмов патогенеза перинатального повреждения клеток нейрональной и глиальной природы [49]. Вход кальция в астроциты определяется активностью натрий-кальциевого обменника и коннексинов. В отличие от нейронов, астроциты сопряжены друг с другом посредством щелевых контактов, регулируемых коннексинами, в основном коннексином 43 и коннексином 30 [16, 19]. Эти каналы ответственны за распространение ионов кальция, калия, а также глутамата между клетками. Установлено, что у животных, не экспрессирующих коннексин 43 в астроцитах, выраженность апоптоза и воспалительной реакции после перенесенной фокальной ишемии мозга значительно выше [40].

Коннексин 43 (Cx43) функционально взаимодействует в мембранах некоторых клеток с ектоферментом CD38, обладающим НАД<sup>+</sup>-гликогидролазной и цАДФР-синтазной активностями. Этот фермент конвертирует НАД<sup>+</sup> в универсальный вторичный посредник — цАДФР, который мобилизует кальций из внутриклеточных депо, действуя через активацию каналов эндоплазматического ретикула, сопряженных с рианодиновыми рецепторами [25, 26, 42]. Последние играют существенную роль в реализации процесса миграции астроцитов при повреждении головного мозга [36]. Экспериментально доказано, что функциональное разобщение CD38 и Cx43 в CD38<sup>+</sup> клетках сопро-

воздается снижением уровня внутриклеточного кальция вследствие редуцированной межклеточной передачи НАД<sup>+</sup>. Согласно такой модели, НАД<sup>+</sup> выполняет гормоноподобные функции после коннексин-опосредованного высвобождения из клеток, стимулируя активность CD38 и одновременно являясь субстратом этого фермента, продуцирующего цАДФР, действующую вне- и внутриклеточно. Установлено, что фосфорилированная форма Cx43 (результат действия, например, протеинкиназы C) не обладает НАД<sup>+</sup>-транспортирующей активностью. Это обеспечивает дополнительный к выше описанному механизм ауторегуляции: повышение уровня цитоплазматического кальция приводит к активации кальций-зависимой протеинкиназы C и фосфорилированию коннексина 43, что трансформирует его в молекулу, не способную транспортировать НАД<sup>+</sup>. Этот механизм чрезвычайно важен, коль скоро он позволяет избежать потери НАД<sup>+</sup> из клеток, истощения уровня внутриклеточного НАД<sup>+</sup> вследствие чрезмерной активности CD38, гиперпродукции цАДФР, вызывающей повышение уровня кальция до токсического уровня [13]. Кроме того, известно, что радикальное снижение уровня внутриклеточного НАД<sup>+</sup>, как правило, ассоциированное с гиперактивацией поли(АДФ-рибозил)полимеразы при окислительном стрессе, имеет своим результатом индукцию митохондриальной дисфункции и апоптоза астроцитов [7]. Таким образом, активация НАД<sup>+</sup>-конвертирующих ферментов в астроцитах, в частности, поли(АДФ-рибозил)полимеразы и АДФ-рибозилциклазы/CD38 может быть важным лимитирующим фактором в регуляции электровозбудимости и выживаемости нейронов и астроцитов при ишемии.

С учетом этих данных весьма важным представляется то, что совместное культивирование астроцитов и нейронов приводит к значительному увеличению экспрессии астроцитарного CD38 как на плазматической мембране, так и внутриклеточно, что связывают с действием глутамата, высвобождающегося из активированных нейронов, на астроциты [13]. С другой стороны, аккумуляция кальция в цитоплазме астроцитов приводит к высвобождению из этих клеток глутамата, что может являться основой модуляции синаптической нейрональной трансмиссии [9]. Объяснение этого феномена, однако, пока не получило развития, в том числе в аспекте гипоксически-ишемического повреждения клеток головного мозга *in vivo*. Кроме того, увеличение цитоплазматической концентрации кальция в астроцитах опосредует астроглиальную регуляцию локального микроциркуляторного ответа [24, 54], и это может представлять собой компонент патогенеза гемодинамических нарушений после перенесенного эпизода гипоксии/ишемии [58].

Принимая во внимание то, что экспрессия коннексинов в тканях различной природы меняется в динамике онтогенеза [18], весьма вероятно то, что коннексин-опосредованный трансцеллюлярный перенос ионов и низкомолекулярных метаболитов в развивающемся мозге может иметь уникальные особенности.

Митохондриальная дисфункция, сопровождающая развитие энергетической катастрофы при гипоксически-ишемическом и особенно реперфузионном повреждении головного мозга, ассоциирована с гиперпродукцией свободных радикалов или развитием собственно феномена эксайтотоксичности, приводящего к митохондриальной аккумуляции кальция. Эти события имеют свои особенности в аспекте перинатального поражения ЦНС. Во-первых,

в незрелом мозге клетки-предшественники олигодендроцитов и преолигодендроциты в большей степени чувствительны к окислительному стрессу, и это объясняет то, что белое вещество мозга в большей степени повреждается у недоношенных новорожденных. Во-вторых, гиперэкспрессия супероксиддисмутазы (SOD1) при неонатальной гипоксии/ишемии усиливает повреждение нервной ткани, что, вероятно, указывает на несовершенство метаболизма глутатиона [49, 50]. Астроциты поддерживают уровень этого трипептида в нейронах, однако такой механизм нарушается при ишемии вследствие нарушения синтеза глутатиона в астроцитах. Кроме того, уровень глутатиона в астроцитах важен для лимитирования токсичности NO в отношении нейронов [15]. Показано, что «глутаматный удар» провоцирует нарушение гомеостаза глутатиона в клетках нейрональной и глиальной природы: повышение уровня внеклеточного глутамата приводит к торможению захвата клетками цистеина — компонента глутатиона, и в итоге — к снижению продукции последнего.

Феномен эксайтотоксичности напрямую связан с развитием патологической (некроз) и физиологической (апоптоз) клеточной гибели, вероятность развития каждого из вариантов определяется, в числе прочих механизмов, степенью сохранности функции митохондрий в поврежденных клетках. Апоптоз клеток нейрональной природы характеризуется тем, что он инициируется, как правило, разрушением синаптических ансамблей, сопровождается нарушением ионного гомеостаза нейронов и дизрегуляторными событиями, связанными с изменением рецепции нейротрансмиттеров и нейрон-глиальных взаимодействий [41]. Была продемонстрирована эффективность ингибирования каспазы-3 в целях протекции головного мозга при воздействии гипоксии/ишемии у 7-дневных крысят, причем подавление NMDA-опосредованной сигнализации тормозило развитие гибели [37].

Особенности нарушения энергетического обмена в нейронах и глиальных клетках напрямую влияют на характер развивающейся нейродегенерации. Как правило, тяжелая митохондриальная дисфункция имеет своим результатом развитие некроза, так как для завершения программы апоптоза требует сохранности части митохондриальных процессов. Исследования на модели гипоксии-ишемии новорожденных крольчат показали, что во многих регионах головного мозга, таких как кора и базальный ганглий, содержится большое количество апоптотических клеток в течение более 7 дней после повреждающего воздействия. Апоптотические клетки были обнаружены во всех регионах головного мозга у 7-дневных крысят, подвергшихся гипоксически-ишемическому воздействию, при этом апоптоз в некоторых регионах наблюдался в более чем 50% всех клеток с признаками нейродегенерации. Большинство регионов головного мозга этих крысят содержало гибридные, так называемые апоптотико-некротические клетки, обладающие морфологическими чертами обоих типов клеточной гибели. Похожие клетки наблюдались и после инъекций эксайтотоксинов, после травматического повреждения незрелого мозга новорожденных кроликов, что, вероятно, является результатом активации эксайтотоксичного каскада, а также повреждения митохондрий [12, 57].

На модели гипоксии/ишемии 7-дневных крысят показано, что уровень апоптоза максимален в зоне СА3, таламусе, зубчатой извилине, эпиталамусе через 24–72 часа, затем постепенно снижается. В области коры мозга, базального ганглия интенсивность апоптоза увеличивалась через 12

часов и сохранялась на высоком уровне в течение 7 дней [38]. Такая гетерогенность, вероятно, связана с асинхронностью вхождения клеток в апоптоз, а также особенностями астроцит-нейрональных и астроцит-эндотелиальных взаимодействий в разных регионах мозга.

Необходимо помнить о том, что апоптоз-индуцирующее действие гипоксии/ишемии на мозг в раннем постнатальном периоде имеет свои принципиальные особенности в силу того, что именно в развивающейся нервной системе наиболее интенсивно протекает процесс физиологической клеточной смерти: в зависимости от вида популяции клеток от 20 до 80% всех нейронов, образующихся в эмбриогенезе, погибает до достижения организмом зрелого возраста [35]. С учетом этого обстоятельства интерпретация данных о выраженности апоптоза клеток нейрональной и глиальной природы при гипоксическом/ишемическом повреждении должна осуществляться с большой долей осторожности. Кроме того, разница энергетического метаболизма нейронов и астроцитов, в частности, превалирование гликолитического пути продукции АТФ в последних, обуславливает разную чувствительность этих клеток к действию индукторов апоптоза: высокую у нейронов и относительно низкую — у астроцитов.

В целом реализация феномена эксайтотоксичности в незрелом мозге во многом определяется особенностями энергетического обмена и нейрон-астроглиального сопряжения, а также характером процессов, регулируемых этими механизмами (электровозбудимость, выживаемость, нейропластичность, регенерация).

### **Перспективы лекарственной терапии гипоксически-ишемического повреждения у новорожденных**

Цель ранней и интенсивной терапии гипоксически-ишемического повреждения головного мозга состоит в том, чтобы процессы репарации доминировали и помогали сохранить то, что оказалось поражено, но не утрачено вовсе. Резерв компенсации не только в поиске новых средств лекарственной терапии, но и в выборе момента ее применения [53]. Исследования на лабораторных животных показали, что незрелый мозг отвечает иным образом на медикаментозную терапию по сравнению с головным мозгом взрослого человека. Терапия, направленная на уменьшение повреждения головного мозга у взрослых, у новорожденных порой оказывает обратный эффект, вероятно, потенцируя апоптоз. Так, фармакологические препараты, блокирующие NMDA-рецепторы или ГАМК-рецепторы А-типа, способны запускать процесс апоптоза в развивающемся мозге кроликов, однако существуют и другие данные, что блокаторы ионных каналов, связанных с NMDA-рецепторами, будучи назначенные до или в короткий промежуток после инсульта, способствуют нейропротекции [57]. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что уже через 1,5–2 часа от начала воздействия гипоксии-ишемии введение блокаторов NMDA-рецепторов становится неэффективным. Мидозалм, закись азота, изофлуран, в основном используемые для анестезии в неонатологической практике, приводят к стойкому снижению способности к обучению, будучи назначенными 7-дневным крысам. А такие препараты, как аллопуринол, дефероксамин, 3-иминобиотин, назначенные непосредственно после инсульта, прерывали процесс повреждения головного мозга, вызванный свободными радикалами, и оказывали положительный эффект у взрослых экспериментальных

животных. Недавние исследования показывают, что комбинированная терапия с использованием гипотермии и топирамата приводит к блокированию эксайтотоксичности и оказывает благоприятное воздействие на последствия повреждения у кроликов. Стандартные схемы интенсивной терапии новорожденных основываются на оценке степени повреждения ЦНС. Гипокапния или гипоксемия являются показаниями для лечения респираторного дистресс-синдрома у новорожденного, но снижение частоты развития кистозной перивентрикулярной лейкомаляции. Осторожная лекарственная терапия, соотнесенная со степенью зрелости головного мозга новорожденного и наследственной чувствительности его к окислительному стрессу и апоптозу, поможет оптимально защитить мозг новорожденного [21].

Выяснение молекулярных механизмов развития клеточной гибели после гипоксии-ишемии в незрелом мозге может стать предпосылкой для создания новых эффективных лекарственных нейропротекторов. Вероятно, комбинация NMDA-антагонистов и ингибиторов каспаз может обеспечить достаточно продолжительный терапевтический эффект [57]. Некоторые факторы роста имеют доказанное протективное действие в отношении гипоксически-ишемического повреждения в незрелом мозге за счет ингибирования апоптоза. Использование факторов роста, таких как эритропоэтин или нейротрофический фактор, выделенный из головного мозга (BDNF), благоприятствует восстановлению нервной ткани [21].

Описано, что глюкокортикоиды обладают потенциальным нейропротективным эффектом, если вводить их до гипоксически-ишемического воздействия у кроликов, что может быть связано с механизмом передачи сигнала через ядерные рецепторы. Также вероятно, что гипотермия может ингибировать или замедлять эксайтотоксичный каскад путем изменения развития апоптоза, а также посредством замедления энергетического метаболизма и снижения образования токсических метаболитов [53]. Исследования на новорожденных животных показали, что умеренная (+32°C) гипотермия, назначенная в первые 1–2 часа после повреждения и продолжительностью не менее 24 часов, оказывает нейропротективный эффект, включая профилактику функциональных расстройств ЦНС, а также продлевает терапевтическое окно для манипуляций. Прекондиционирование гипоксией уменьшает последующее повреждение мозга путем запуска эндогенных нейропротективных механизмов [57].

### **Заключение**

Расшифровка клеточно-молекулярных и патофизиологических механизмов нарушения энергетического метаболизма при гипоксически-ишемическом повреждении головного мозга, в том числе в тех ситуациях, когда развитие его еще не завершено, представляет собой актуальную задачу, решение которой во многом определит перспективы создания новых эффективных фармакотерапевтических технологий нейропротекции и нейрогенерации.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МД-2826.2007.7).*

## Список литературы

1. Барашичев Ю.И., Розанов А.В., Панов В.О. и др. Роль гипоксически-травматических повреждений головного мозга в формировании инвалидности с детства. Педиатрия 2006; 4: 41.
2. Здоровье матерей и новорожденных в Европейском регионе ВОЗ: актуальные задачи и пути их решения. <http://www.euro.who.int/document/Mediacentre/fs0305r.pdf>.
3. Качурина Д.Р., Саулбекова Л.О., Алмагамбетова А.Н. Особенности психоэмоционального развития и психосоматических дисфункций у детей с перинатальными поражениями ЦНС. Рос. вестн. перинатол. педиатр. 2006; 2: 41–43.
4. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Блинов Д.В. и др. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях центральной нервной системы у новорожденных. Вopr. гинекол. акуш. перинатол. 2004; 3: 50–61.
5. Янушанец Н.С. Анализ уровня и структуры детской инвалидности вследствие заболеваний нервной системы в Санкт-Петербурге. Рос. вестн. перинатол. педиатр. 2006; 4: 53–55.
6. Abbot N.J., Ronnback L., Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. Nature Reviews. Neuroscience 2006; 7: 41–53.
7. Alano C.C., Ying W., Swanson R.A. Poly(ADP-ribose)polymerase-1-mediated cell death in astrocytes requires NAD<sup>+</sup> depletion and mitochondrial permeability transition. J. Biol. Chem. 2004; 279: 18895–18902.
8. Almeida A., Almeida J., Bolanos J.P. et al. Different responses of astrocytes and neurons to nitric oxide: The role of glycolytically-generated ATP in astrocyte protection. Proc. Natl. Acad. Sci. 2001; 98: 15294–15299.
9. Araque A., Sanzgiri R.P., Parpura V. et al. Calcium elevation in astrocytes causes an nmda receptor-dependent increase in the frequency of miniature synaptic currents in cultured hippocampal neurons. J. Neurosci. 1998; 18: 6822–6829.
10. Bambrick L., Kristian T., Fiskum G. Astrocyte mitochondrial mechanisms of ischemic brain injury and neuroprotection. Neurochemical Res. 2004; 29: 601–608.
11. Benjelloun N., Renolleau S., Represa A. et al. Inflammatory responses in the cerebral cortex after ischemia in the P7 neonatal rat. Stroke 1999; 30: 1916–1924.
12. Blomgren K., Zhu C., Wang X. et al. Synergistic activation of caspase-3 by m-calpain after neonatal hypoxia-ischemia. J. Biol. Chem. 2001; 276: 10191–10198.
13. Bruzzone S., Franco L., Guida L. et al. A self-restricted CD38-connexin 43 cross-talk affects NAD<sup>+</sup> and cyclic ADP-ribose metabolism and regulates intracellular calcium in 3T3 fibroblasts. J. Biol. Chem. 2001; 276: 48300–48308.
14. Bueno D., Azzolin I.R., Perry M.L.S. Ontogenic study of glucose and lactate utilisation by rat cerebellum slices. Med. Sci. Res. 1994; 22: 631–632.
15. Chen Y., Vartiainen N.E., Ying W. et al. Astrocytes protect neurons from nitric oxide toxicity by a glutathione-dependent mechanism. J. Neurochem. 2001; 77: 1601–1610.
16. Contreras J.E., Sanchez H.A., Eugenin E.A. et al. Metabolic inhibition induces opening of unapposed connexin 43 gap junction hemichannels and reduces gap junctional communication in cortical astrocytes in culture. Proc. Natl. Acad. Sci. 2001; 10.1073/pnas.012589799.
17. Covey M.V., Lewison S.W. Pathophysiology of perinatal hypoxia-ischemia and the prospects for repair from exogenous and endogenous stem cells. NeoReviews 2006; 7: e353.
18. Evans W.H., Martin P.E. Gap junctions: structure and function. Mol. Membr. Biol. 2002; 19: 121–136.
19. Fellin T., Carmignoto G. Neuron to astrocyte signalling in the brain represents a distinct multifunctional unit. J. Physiol. 2004; 559: 3–15.
20. Fern R., Moller T. Rapid ischemic cell death in immature oligodendrocytes: a fatal glutamate release feedback loop. J. Neuroscience 2000; 20: 34–42.
21. Ferriero M.D. Neonatal Brain Injury. New Engl. J. Med. 2004; 351: 1985–1995.
22. Giffard R.G., Swanson R.A. Ischemia-induced programmed cell death in astrocytes. Glia 2005; 50: 299–306.
23. Hatton G.I. Glial-neuronal interactions in the mammalian brain. Adv. Physiol. Edu. 2002; 26: 225–237.
24. Haydon P.G., Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. Physiol. Rev. 2006; 86: 1009–1031.
25. Higashida H., Hashii M., Yokoyama S. et al. Cyclic ADP-ribose as a second messenger revisited from a new aspect of signal transduction from receptors to ADP-ribosyl cyclase. Pharmacol. Therapeutics 2001; 90: 283–296.
26. Higashida H., Salmina A.B., Olovyanikova R.Ya. et al. Cyclic ADP-ribose as a universal calcium signal molecule in the nervous system. Neurochem. Int. 2007; 51: 192–199.
27. Jacobson J., Duchon M.R. Mitochondrial oxidative stress and cell death in astrocytes – requirement for stored Ca<sup>2+</sup> and sustained opening of the permeability transition pore. J. Cell Sci. 2002; 115: 1175–1188.
28. Jensen F.E., Wang C., Stafstrom C.E. et al. Acute and chronic increases in excitability in rat hippocampal slices after hypoxia in vivo. J. Neurophysiol. 1998; 79: 73–81.
29. Kalman M., Szabo A. Immunohistochemical investigation of actin-anchoring proteins vinculin, talin and paxillin in rat brain following lesion: a moderate reaction, confined to the astroglia of brain tracts. Exp. Brain Res. 2001; 139: 426–434.
30. Kann O., Kovacs R. Mitochondria and neuronal activity. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2007; 292: C641–C657.
31. Jensen F.E. Role of glutamate receptors in periventricular leukomalacia. J. Child Neurol. 2005; 20: 950–959.
32. Lalo U., Pankratov Yu., Kirchhoff F. et al. NMDA receptors mediate neuron-to-glia signaling in mouse cortical astrocytes. J. Neurosci. 2006; 26: 2673–2683.
33. Lubec B., Chiappe-Gutierrez M., Hoeger H. et al. Glucose transporters, hexokinase, and phosphofructokinase in brain of rats with perinatal asphyxia. Pediatric Res. 2000; 47: 84–88.
34. Magistretti P.J. Neuron-glia metabolic coupling and plasticity. J. Exp. Biol. 2006; 209: 2304–2311.
35. Mattson M.P. Apoptotic and anti-apoptotic synaptic signaling mechanisms. Brain Pathol. 2000; 10: 300–312.
36. Matyash M., Matyash V., Nolte C. et al. Requirement of functional ryanodine receptor type 3 for astrocyte migration. FASEB J. 2002; 16: 84–86.
37. Meldrum B.S. Glutamate as neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. J. Nutrition 2000; 1007S–1015S.
38. Nakajima W., Ishida A., Lange M.S. et al. Apoptosis has a prolonged role in the neurodegeneration after hypoxic ischemia in the newborn rat. J. Neurosci. 2000; 20: 7994–8004.
39. Nakamura Y., Nakashima T., Fukuda S. et al. Hypoxic-ischemic brain lesions found in asphyxiating neonates. Acta Pathol. Jpn. 1986; 36: 551–563.
40. Nakase N., Sohl G., Theis M. et al. Increased apoptosis and inflammation after focal brain ischemia in mice lacking connexin 43 in astrocytes. Am. J. Pathol. 2004; 164: 2067–2075.
41. Puler M.R., Adams L.M., Liu H. et al. Apoptosis in neonatal rat model of cerebral hypoxia-ischemia. Stroke 1998; 29: 2622–2630.
42. Salmina A.B., Olovyanikova R.Ya., Noda M. et al. NAD<sup>+</sup> metabolism and ADP-ribosyl cyclase as targets for central nervous system therapy. Curr. Med. Chem. 2006; 6: 193–210.
43. Seifert G., Schilling K., Steinhäuser C. Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. Nature Reviews. Neuroscience 2006; 7: 194–206.
44. Schurr A., Miller J.J., Payne R.S. et al. An increase in lactate output by brain tissue serves to meet the energy needs of glutamate-activated neurons. J. Neurosci. 1999; 19: 34–39.

45. Schurr A. Lactate, glucose and energy metabolism in the ischemic brain. *Int. J. Molecul. Med.* 2002; 10: 131–136.
46. Sonnewald U., Qu H., Ascher M. Pharmacology and toxicology of astrocyte-neuron glutamate transport and cycling. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 301: 1–6.
47. Szaflarski J., Burtum D., Silverstein S. Cerebral hypoxia-ischemia stimulates cytokine expression in perinatal rats. *Stroke* 1995; 26: 1093–1100.
48. Thoren A.E., Helps S.C., Nilsson M. et al. The metabolism of 14C-glucose by neurons and astrocytes in subregions following focal cerebral ischemia in rats. *J. Neurochem.* 2006; 97: 968–978.
49. Vanucci R.C., Brucklacher R.M., Vanucci S.J. Intracellular calcium accumulation during the evolution of hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat. *Dev. Brain Res.* 2001; 126: 117–120.
50. Vannucci S.J., Hagberg H. Hypoxia-ischemia in the immature brain. *J. Experiment. Biol.* 2004; 207: 3149–3154.
51. Vanucci R.C., Vowfighi J., Vanucci S.J. Secondary energy failure after cerebral hypoxia-ischemia in the immature rat. *J. Cereb. Blood. Flow Metab.* 2004; 24: 1090–1097.
52. Verkhratsky A. NMDA receptors in glia. *Neuroscientist* 2007; 13: 28–37.
53. Wagner B.P., Nedelcu J., Martin E. Delayed postischemic hypothermia improves long-term behavioral outcome after cerebral hypoxia-ischemia in neonatal rats. *Pediatr. Res.* 2002; 51: 354–360.
54. Winship I.R., Plaa N., Murphy T.H. Rapid astrocyte calcium signals correlate with neuronal activity and onset of the hemodynamic response in vivo. *J. Neurosci.* 2007; 27: 6268–6272.
55. Xiang Z., Yuan M., Hassen G.W. et al. Lactate induced excitotoxicity in hippocampal slice cultures. *Exp. Neurol.* 2004; 186: 70–77.
56. Yu A.C., Lee Y.L., Fu W.Y. et al. Gene expression in astrocytes during and after ischemia. *Prog. Brain Res.* 1995; 105: 245–253.
57. Zipursky A., Jonston M.V., Trescher W.H. et al. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain. The developing nervous system: a series of review. *Pediatr. Res.* 2001; 49: 735–741.
58. Zonta M., Angulo M.C., Gobbo S. et al. *Nat. Neurosci.* 2003; 6: 43–50.
59. Zovein A., Flowers-Ziegler J., Thamotharan S. et al. Postnatal hypoxic-ischemia brain injury alters mechanisms mediating neuronal glucose transport. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004; 286: R273–R282.

## Neuron-astroglial interactions in dysregulation of energy metabolism in perinatal ischemic brain damage

A.B. Salmina, S.O. Okuneva, T.E. Taranushenko, A.A. Fursov,  
S.V. Prokopenko, S.V. Mikhutkina, N.A. Malinovskaya, G.A. Tagaeva

*Krasnoyarsk State Medical Academy*

**Key words:** neuron, astrocyte, perinatal hypoxic-ischemic damage, brain, energy metabolism, neuroplasticity.

Presented is a review of the literature on the problem of hypoxic-ischemic perinatal brain damage in the context of alterations of astroglial regulation of neuronal energy metabolism and mechanisms of excitotoxicity. Characteristics of energy metabo-

lism in the developing brain responsible for specificity of its damage in perinatal period, as well as cell and molecular mechanisms of disturbances of neuron-astrocyte coupling controlling regulation of neuroplasticity are discussed.