

Сравнительный анализ микроэлементных профилей 10 отделов головного мозга при ишемическом инсульте и без ишемических повреждений

З.К. Зангиева, Е.И. Гусев, О.А. Громова, И.Ю. Торшин,
А.А. Никонов, А.П. Ракша, А.Ю. Волков

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России
РСЦ Нейробиологии Института микроэлементов ЮНЕСКО, Москва

Нарушения баланса макро- и микроэлементов (МЭ) увеличивают риск развития цереброваскулярных заболеваний, в том числе ишемического инсульта (ИИ). Принимая во внимание разносторонние неврологические роли микроэлементов, изучение нормофизиологической и патофизиологической картин распределения микроэлементов в ЦНС представляет чрезвычайный интерес. В настоящей работе был впервые проведен комплексный сравнительный анализ микроэлементного состава основных участков головного мозга у пациентов, умерших от ишемического инсульта ($n = 6$), и пациентов, умерших от других причин ($n = 5$). Представлены результаты сравнительных анализов особенностей профилей микроэлементов в очагах ИИ и в зеркальных полушариях, правой-левой асимметрии распределения микроэлементов у пациентов с ИИ и без ИИ, системных нарушений в уровнях микроэлементов при ИИ вне ишемических очагов; представлены карты распределения микроэлементов по различным отделам головного мозга. Установлено существование «фоновых» микроэлементов — тех, содержание которых практически одинаково во всех участках мозга. Показано, что асимметрия компартментализации МЭ в головном мозге гораздо более выражена при отсутствии ишемических повреждений (группа контроля), чем в случае ИИ. Локальная ишемия в любой из исследованных зон мозга приводила к достоверному нарушению содержания восьми МЭ (Cu, Cs, Zn, Sr, Co, Mn, Rb, Ag) во многих внеочаговых зонах. Цинк и медь необходимы для активации антиоксидантной защиты нейронов. В целом, результаты исследования открывают сложную картину микроэлементного гомеостаза в головном мозге.

Ключевые слова: микроэлементы, головной мозг, ишемический инсульт, нейропротекция, лантаноиды.

Введение

Сосудистые поражения мозга занимают в ряде экономически развитых стран 2–3 место среди причин смерти. В Российской Федерации инсульт ежегодно развивается более чем у 450 тыс. человек, из которых примерно 35 % умирают в остром периоде заболевания [1–3]. Смертность от заболевания тем более высока, чем выше оценка инсульта по шкалам тяжести, например по шкале инсульта Национального института здоровья NIH [3]. Неблагоприятные медико-социальные последствия побуждают исследователей искать новые возможности для повышения эффективности профилактических мероприятий и выявления причин, приводящих к инсульту [1].

Существенной группой факторов, роль которых часто недооценивается, являются уровни макроэлементов (МаЭ) и микроэлементов (МЭ) в различных тканях организма, в том числе в ЦНС. Определенные микроэлементы принципиально необходимы для под-

держания самых различных аспектов метаболизма нейронов и клеток глии. Энергетические и пластические процессы в нервной ткани протекают исключительно интенсивно, а их зависимость от обеспеченности головного мозга макро- и микроэлементами делает необходимым учет микроэлементного статуса пациентов с ИИ.

Так, нарушение баланса кальция значительно влияет на глубину и распространенность зоны ишемии. Патологически высокая концентрация внутриклеточного кальция при ишемическом повреждении мозга приводит к избыточному высвобождению глутамата и других возбуждающих нейротрансмиттеров и, следовательно, к нежелательной, поглощающей энергию гиперактивности нейронов и глии в зоне инсульта [4].

Магний не только нормализует систему тромбоза, но и воздействует на несколько параллельных молекулярных каскадов (глутаматные рецепторы, энергетический обмен, апоптоз и сигнальные каскады

нейротрофических факторов), участвующих в регенерации и защите нервной ткани [5].

Цинк — эссенциальный микроэлемент, имеющий отчетливое иммуно- и нейромодулирующее воздействие. В неврологии цинк является одним из самых изученных микроэлементов. Значение цинка в активности ЦНС можно оценить хотя бы из самого факта существования так называемых «цинкэргических» нейронов, обнаруженных во всех областях коры головного мозга, особенно в гипоталамусе [6].

Медь — эссенциальный микроэлемент, имеющий прямое отношение к процессам клеточного дыхания нейронов: один из ключевых ферментов «дыхательной цепи». Медь принимает участие в азотном обмене, входя в состав нитратредуктазного комплекса, участвует в процессах, которые обеспечивают ткани кислородом. В эксперименте дефицит меди непосредственно приводил к железодефицитной анемии вследствие нарушения абсорбции железа [7].

Изменения в распределении МЭ между тканями организма и их количественные изменения при развитии того или иного патологического состояния ЦНС можно рассматривать (1) как проявление компенсаторно-защитных механизмов или же (2) как следствие нарушения регуляторных механизмов, поддерживающих необходимое для нормального течения обменных процессов соотношение между МЭ в тканях организма. Эти изменения могут служить диагностическим тестом или тестом для прогноза исхода ИИ [8].

Ткань мозга является крайне редко используемым материалом для получения информации о концентрации МЭ, и крайне важным является их изучение непосредственно в очаге ИИ. Определение элементного состава ткани мозга отражает устойчивые показатели, сформировавшиеся за достаточно большой промежуток времени. Кроме функции обмена макро- и микроэлементов, ткань мозга отражает процесс накопления токсических и условно-токсических МЭ.

Несмотря на то что имеется значительный массив данных о распределении микроэлементов в различных отделах мозга, большинство этих исследований связаны с уточнениями ролей накопления токсических МЭ при таких нейродегенеративных заболеваниях, как болезнь Альцгеймера, Гентингтона, Паркинсона и проч. В то же время исследований микроэлементного состава непосредственно очагов инсульта до сих пор не было проведено.

С нейрофизиологической точки зрения изменения уровней микроэлементов в различных отделах головного мозга связаны (1) с изменениями уровней этих микроэлементов в плазме крови, (2) с изменениями циркуляции крови в отделах мозга, (3) с изменениями метаболизма рассматриваемых отделов мозга, приводящим к накоплению одних и потерям других микроэлементов. Для различения этих эффектов и установления ролей перераспределения МЭ при ИИ необходимо изучение микроэлементного профиля

в контексте клинического обследования пациентов.

В настоящей работе представлены результаты анализа распределения (компарментализации) микроэлементов в различных отделах мозга. Компарментализация различных микронутриентов в головном мозге и особенно в очаге ишемического инсульта никогда в мировой практике не были изучены в рамках комплексного клинического обследования пациентов. В работе проведено определение полного МЭ-профиля из 59 микроэлементов в левых и правых частях десяти отделов головного мозга (мозжечок, лобная доля, теменная доля, затылочная доля, височная доля, таламус, мост, продолговатый мозг, ножки мозга, мозолистое тело). Также впервые была исследована симметрия распределения МЭ в левом и правом полушариях головного мозга. Эти данные для пациентов с ИИ сравнивались с данными для пациентов, умерших от острого инфаркта миокарда и не имевших очаговой патологии мозга.

Материалы и методы

При проведении данной работы под нашим наблюдением находились 11 пациентов реанимационного отделения 1-й Градской больницы Москвы в период 2009–2012 гг. Из них 6 пациентам 70–80 лет (6 женщин) был поставлен диагноз «ишемический инсульт», а 5 пациентам (1 мужчина, 4 женщины) — «острый инфаркт миокарда», но без острого нарушения мозгового кровообращения.

После смерти пациентов, умерших от ИИ и от ОИМ, было проведено патолого-анатомическое вскрытие по стандартному протоколу в патолого-анатомических отделениях ГКБ № 1 и ГКБ № 55 Москвы. Забор материала производился при патолого-анатомическом вскрытии в следующей последовательности.

Шаг 1. После извлечения мозга сразу же производился горизонтальный разрез полушарий для забора ликвора из 3-го и 4-го желудочков мозга. Ликвор забирался в специальные шприцы-пробирки, объем ликвора — до 5 мл.

Шаг 2. Взятие ткани мозга из больших полушарий мозга размерами 1 см³. Для исследования были целенаправленно произведены заборы из фиксированных участков всех долей обоих полушарий мозга.

Шаг 3. Забор ткани мозга из правого и левого полушария мозжечка.

Шаг 4. Затем производился забор ткани мозга из правого и левого таламуса.

Шаг 5. Забор ткани колена мозолистого тела мозга, ткани моста, продолговатого мозга.

Шаг 6. Выделялись ножки моста, они делились на правую и левую половины, после этого исследовались отдельно.

Шаг 7. Также производился забор ткани мозга из участка ишемического инфаркта мозга и из зеркальной зоны неповрежденного полушария мозга.

Итого взято 22 пробы тканей мозга от каждого исследованного нами мозга пациента, умершего от ишемического инфаркта головного мозга.

Забор материала ткани мозга у пациентов контрольной группы с инфарктом миокарда проводился в той же последовательности: всего взято 20 образцов ткани мозга. Образцы ткани собирались в отдельные специальные пластиковые контейнеры для хранения биоматериала. После забора материал помещался в морозильную камеру при температуре -20°C и хранился до момента исследования.

Определение микроэлементного состава образцов мозга

Образцы мозга помещали в пластиковые контейнеры а затем в пакеты с идентификационными записями. Анализ образцов ткани мозга проводили методом АЭС-ИСАП согласно методикам, изложенным в рекомендациях Г.Г. Онищенко и Н.В. Шестопалова (1999), А.Ю. Волкова и Р.Т. Тогузова (2007). Выбранный метод анализа обеспечивает правильность и хорошую воспроизводимость результатов, достаточный предел обнаружения, избирательность и производительность. Элементный анализ тканей мозга проводился на базе кафедры клинической и лабораторной диагностики РГМУ. Этот метод наиболее точный и производительный и позволяет анализировать количественно «практически всю таблицу Д.И. Менделеева» на уровне следов элементов с минимальной навеской [Волков А.Ю., Тогузов Р.Т., 2002]. В образцах мозга были изучены 59 химических элементов, а именно Mo, Mn, Co, Fe, Se, Cr, Cu, Zn, I, Si, As, V, Li, Br, F, B, Ni, W, Rb, Ag, Au, Te, Sn, Ti, Sb, Al, Be, Cd, Pb, Bi, Tl, Hg, Ba, Dy, Pr, Sr, Ho, Nb, Sc, Nd, Hf, Pt, Ga, Er, Sm, Lu, Ru, Tb, Ir, Os, Tm, La, Re, Rh, Y, Ta, Cs, Gd, Ce.

Анализ данных

Для стандартной статистической обработки результатов исследования использовались методы математической статистики, включающие расчет числовых характеристик случайных величин, проверки статистических гипотез с использованием параметрических и непараметрических критериев, корреляционного и дисперсионного анализа. Сравнение прогнозируемых и наблюдаемых частот встречаемости исследуемых признаков проводилось с помощью критерия χ^2 -критерий Вилкоксона-Манна-Уитни и тест Стьюдента. Для статистической обработки материала

использовались прикладная программа Statistica 6.0 и электронные таблицы Microsoft Excel.

Помимо стандартных методов статистики, в ходе анализа данных скрининга были использованы новые математические подходы для нахождения метрических сгущений в пространстве параметров биомедицинского исследования, разрабатываемые в научной школе академика РАН Ю.И. Журавлева и чл.-корр. РАН К.В. Рудакова [9–11].

Результаты

В результате проведенной работы был осуществлен сбор и анализ данных о микроэлементном составе, представленном в виде профиля из 59 элементов таблицы Д.И. Менделеева, 10 отделов головного мозга (лобная доля, теменная доля, затылочная доля, височная доля, таламус, мост, продолговатый мозг, ножки мозга, мозолистое тело, мозжечок) у 6 пациентов с ИИ и в контрольной группе из 5 пациентов без ИИ. При этом определение микроэлементных профилей участков мозга проводилось отдельно для левой и правой половин каждого из 10 исследованных отделов (включая отделы с очагом ИИ), что позволило оценить правую-левую асимметрию распределения различных микроэлементов в головном мозге.

Профили микроэлементов в очагах ИИ и в зеркальных областях мозга

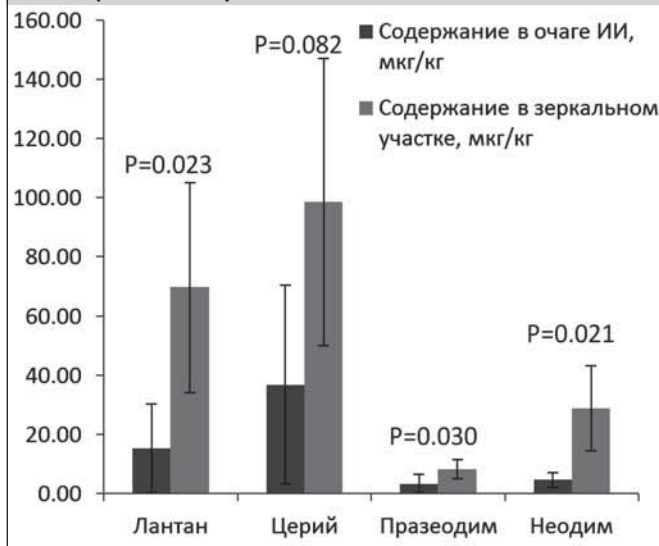
Для установления патофизиологически значимых отклонений уровней МЭ в определенном отделе головного мозга при ИИ необходимо сравнение полученных профилей содержания микроэлементов в очаге ИИ с некоторым набором профилей МЭ, отражающим нормофизиологическое распределение МЭ. При локальной ишемии в любом из участков одной половины мозга гомеостаз зеркально соответствующего участка второй половины остается гораздо менее затронутым по сравнению с нормофизиологическим состоянием. Поэтому в качестве сравнения могут быть использованы профили МЭ, отражающие содержание МЭ в областях головного мозга, зеркальных очагу ИИ у каждого из пациентов. Результаты сравнительного анализа содержания МЭ между очагами ишемии и зеркальными участками головного мозга у пациентов с ИИ представлены в табл. 1.

Важно отметить, что уровни всех четырех лантаноидов (La, Ce, Pr, Nd) были существенно снижены в очаговой зоне. Биологические свойства лантаноидов

Таблица 1. Наиболее значимые отличия в содержании МЭ между очагами ИИ и зеркальными участками головного мозга

МЭ	Название элемента	Содержание в очаге ИИ, мкг/кг	Содержание в зеркальном участке, мкг/кг	P (t-тест)
La	Лантан	15,42 ± 19,39	69,66 ± 35,39	0,023
Ce	Церий	36,79 ± 33,47	98,62 ± 48,48	0,082
Pr	Празеодим	3,43 ± 3,21	8,32 ± 3,21	0,030
Nd	Неодим	4,71 ± 2,46	28,83 ± 14,39	0,021

Рис. 1. Значимые отличия в содержании МЭ между очагами ИИ и зеркальными участками головного мозга



обусловлены в первую очередь частичным сходством химических свойств лантаноидов с кальцием. Антиоксидантные свойства оксидов лантаноидов защищают клетки от гибели вследствие избыточных концентраций активных форм кислорода (АФК) [14].

Основные биологические эффекты лантаноидов связаны с модуляцией активности кальциевых каналов. Кальциевые каналы являются важными регуляторами возбудимости нейронов, способствуют секреции нейромедиаторов, кальций-зависимой экспрессии генов. В физиологических условиях токи кальциевых каналов низкого напряжения (Т-типа) и каналов высокого напряжения (Н-типа) модулируются трехвалентными катионами лантаноидов, поэтому установление сниженных уровней лантаноидов в очагах ишемии представляется весьма интересным, принимая во внимание, что нарушение баланса кальция характерно для ишемического повреждения нейронов.

Изучение влияния трехвалентных катионов лантаноидов на нейрональные кальциевые каналы Т-типа (Cav3.1) показало, что наиболее эффективным ингибитором каналов этого типа был иттрий ($IC_{50} = 28$ нмоль/л), затем эрбий > гадолиний ~ церий > гольмий > иттербий > неодим > лантан >> скандий. При этом эффект воздействия лантаноидов на каналы был довольно специфичен: в зависимости от потенциала мембраны лантаноиды преимущественно ингибировали ток катионов внутрь, а не наружу нейрона, снижая максимальный (пиковый) ток канала [15]. Снижение избыточного тока кальция внутрь нейрона защищает клетки от апоптоза.

Интрацеребровентрикулярное введение хлористого лантана производило антиноцицептивные эффекты при использовании различных тестов. Эти эффекты были снижены при периферическом введении налоксона или внутривенным введением хлорида кальция.

В моделях морфиновой зависимости введение лантана снижало симптоматику абстиненции [16].

Так называемый «наноцерий» (оксид церия в нанокристаллической форме) представляет собой мощный антиоксидант и подобно другим антиоксидантам может защищать клетки от окислительного стресса [17]. Помимо антиоксидантных эффектов, «наноцерий» влияет на процессы экспрессии (транскрипции) генов [18]. В эксперименте изучение срезов гиппокампа показало, что наночастицы диоксида церия способны уменьшить гибель клеток от ишемии примерно на 50 % вследствие антиоксидантного эффекта и смягчения нитрозативных повреждений головного мозга [19]. Таким образом, снижение уровней лантаноидов в ишемических очагах создает негативные условия для выживания нейронов.

Следует отметить, что описанное выше сравнение профилей МЭ в ишемическом очаге с профилями МЭ в зеркальных очагу областях головного мозга не принимает во внимание того, что даже локализованная ишемия может оказывать существенное негативное воздействие на весь головной мозг, в том числе и на зеркальный очагу участок. Следовательно, при сравнениях с зеркальным участком физиологически значимые отличия в уровнях МЭ в очаге могут отсутствовать. Поэтому в качестве сравнения также следует использовать и нормофизиологические профили МЭ соответствующего участка мозга, полученные для контрольной группы (пациенты без ИИ). Эти сравнения должны также учитывать эффекты правой-левой асимметрии нормофизиологического распределения МЭ в головном мозге.

Сравнения отклонений содержания МЭ в очаге ИИ с данными для соответствующих участков головного мозга пациентов контрольной группы не только подтвердили установленные ранее отличия в уровнях лантаноидов, но и позволили установить ряд других существенных отличий микроэлементного состава очагов ИИ. В частности, очаги с локализацией в теменной области характеризовались снижением уровней всех элементов первой группы периодической системы начиная с меди. Снижение уровней меди, золота и серебра может негативно сказываться на иммуномодуляции; нарушать регуляцию процессов воспаления, а снижение уровней рутидия и цезия может отрицательно сказаться на регуляции артериального давления [20, 21]. За исключением уровней никеля и рутидия у пациентов с ИИ, локализованным в височной области, все достоверные различия ($P < 0,05$) и тренды ($0,05 < P < 0,09$) соответствовали именно снижению, а не повышению уровней определенных МЭ в ишемическом очаге.

Правая-левая асимметрия компартментализации микроэлементов у пациентов с ИИ и без ИИ

Левая и правая половины головного мозга выполняют взаимозависимые, но различные функции. Как результат, между двумя половинами мозга наблюдается

определенная асимметрия в морфологии нервной ткани, интенсивности кровоснабжения, васкуляризации, гомеостаза, в том числе микроэлементного [22, 23]. Настоящее исследование предоставило уникальную возможность установления степени асимметричности распределения тех или иных МЭ как при ИИ, так и при отсутствии ИИ.

Общим, но весьма интересным заключением, сделанным на основании анализа собранных данных, является тот факт, что асимметрия компартментализации МЭ в головном мозге гораздо более выражена при отсутствии ишемических повреждений (группа контроля), чем в случае ИИ. Так, в группе контроля было установлено существование 27 достоверных корреляций ($P < 0,05$) и трендов ($0,05 < P < 0,09$), указывающих на значимые различия в компартментализации МЭ. В то же время у пациентов с ИИ было установлено существование всего лишь 10 корреляций и трендов, указывающих на асимметрическое распределение МЭ между зеркальными отделами головного мозга. Таким образом, нормофизиологическое состояние головного мозга характеризуется физиологической асимметрией распределения МЭ между левой и правой половинами.

При отсутствии ишемических повреждений отдела мозга с наиболее выраженной асимметрией в распределении МЭ являлись таламус и мост. Так, правая половина таламуса характеризовалась более высоким накоплением железа, меди, цинка, йода, рубидия, золота, стронция, цезия, а также ванадия и кремния. Левая половина моста концентрировала йод, рубидий, серебро, золото, стронций и цезий. Стронций показал наибольшее число достоверных (включая тренды) примеров асимметрического распределения в головном мозге: отмечено концентрирование стронция в левых частях мозжечка и моста и в правых частях теменной доли, таламуса и продолговатого мозга.

Рассмотрим более подробно одно из наиболее достоверных проявлений асимметрии в уровнях МЭ — существенно большее накопление йода в правой части таламуса по сравнению с левой ($P = 0,007$). Заметим, что среди отделов головного мозга наивысшие уровни йод-содержащих гормонов трийодтиронина (Т3) и тетрайодтиронина (Т4) установлены именно в таламусе [24]. Гормоны Т3 и Т4 стимулируют образование холинергических терминалей, важных для процессов памяти [25].

Одним из возможных объяснений асимметрии распределения йода и других МЭ в таламусе является то, что большинство пациентов в контрольной группе составили женщины. Преобладание функций, связанных с работой именно правой половины мозга, составляет важное гендерное отличие женщин. Очевидно, что такая функциональная асимметрия соответствует асимметрии в интенсивности энергетического обмена и функционирования антиоксидантных ферментов. Такие элементы, как Fe, Cu, Zn и I, имеют принципиальное значение как для энергетического метаболизма,

так и для антиоксидантной защиты мозга. Отметим, что данная гипотеза также соответствует более интенсивному накоплению МЭ в левой части моста по сравнению с правой, что отражает перекрещивание нервных путей на уровне моста.

Результаты проведенного анализа позволяют утверждать, что ишемические события приводят к нарушению естественного асимметрического распределения МЭ в головном мозге пациентов, обследованных *post mortem*. Сравнение данных показывает, что ни одно из асимметрических распределений МЭ у пациентов без ИИ не было установлено у пациентов с ИИ. При этом нарушения симметрии компартментализации МЭ происходят не только в зоне очага, но и вне ишемических очагов. При ишемии возникают такие (по всей видимости, патологические) нарушения компартментализации, как избыточное накопление марганца в левых частях теменной и височной долях, избыточное накопление золота в левой теменной доле, избыток ванадия в левой ножке мозга и др.

Системные нарушения в уровнях микроэлементов у пациентов с ИИ вне ишемических очагов по сравнению с контролем

Так как даже локальная ишемия приводит к частичному нарушению кровоснабжения всего головного мозга, то можно ожидать существование достоверных (по сравнению с контрольной группой) отличий в содержании микроэлементов не только в очагах ИИ, но и в отделах мозга, не затронутых патологическим процессом (внеочаговых отделах). У пациентов с ИИ большинство исследованных элементов характеризовались достоверно сниженным или повышенным содержанием только в одной или двух внеочаговых зонах из 10 исследованных зон. В то же время восемь элементов (Cu, Cs, Zn, Sr, Co, Mn, Rb, Ag) характеризовались достоверными отклонениями в значительно большем числе отделов мозга. Иначе говоря, локальная ишемия в любой из исследованных зон мозга приводит к нарушению содержания этих восьми МЭ во многих внеочаговых зонах.

Сравнение профилей содержания микроэлементов в левых и правых частях 10 отделов головного мозга у пациентов с ИИ и в контрольной группе указало на достоверные различия в содержании 28 элементов в правой стороне мозга и 24 элементов в левой стороне. Всего было установлено 102 статистически достоверных (по *t*-тесту) различия в содержании МЭ вне очагов ИИ. Большинство из этих различий относились только к одной стороне мозга — только к правой или только к левой. Отличия ряда МЭ, однако, были характерны для обеих сторон мозга (табл. 2).

В соответствии с данными в табл. 2, локальная ишемия в одном из участков мозга приводит к потерям кобальта в левой и правой лобной доле, левом и правом мозжечке (при сравнении с контрольной группой



МЭ	Отдел мозга	Содержание у пациентов с ИИ, мкг/кг	Содержание у пациентов без ИИ, мкг/кг	P (t-тест)
Co	Лобная доля, Л	96 ± 38	158 ± 36	0,017
	Лобная доля, П	61 ± 37	160 ± 115	0,065
	Мозолистое тело, Л	78 ± 32	120 ± 46	0,080
	Мозолистое тело, П	80 ± 31	142 ± 72	0,067
Cu	Теменная доля, Л	73 373 ± 27 528	17 542 ± 12 487	0,056
	Теменная доля, П	36 380 ± 22 917	15 292 ± 11 757	0,043
	Височная доля, Л	48 216 ± 32 792	15 588 ± 7863	0,038
	Височная доля, П	26 798 ± 18 835	14 064 ± 7780	0,081
	Ножки мозга, Л	47 681 ± 25 462	19 821 ± 13 083	0,050
	Ножки мозга, П	51 276 ± 40 337	20 360 ± 6838	0,060
Zn	Теменная доля, Л	104 334 ± 99 550	25 433 ± 20 728	0,083
	Теменная доля, П	67 044 ± 42 519	25 022 ± 21 494	0,034
Ag	Височная доля, Л	1412 ± 794	69 ± 51	0,063
	Височная доля, П	680 ± 597	101 ± 58	0,080
Cs	Теменная доля, Л	70 ± 43	30 ± 15	0,044
	Теменная доля, П	77 ± 62	32 ± 21	0,084
	Продолговатый мозг, Л	82 ± 44	22 ± 10	0,027
	Продолговатый мозг, П	72 ± 64	27 ± 11	0,079

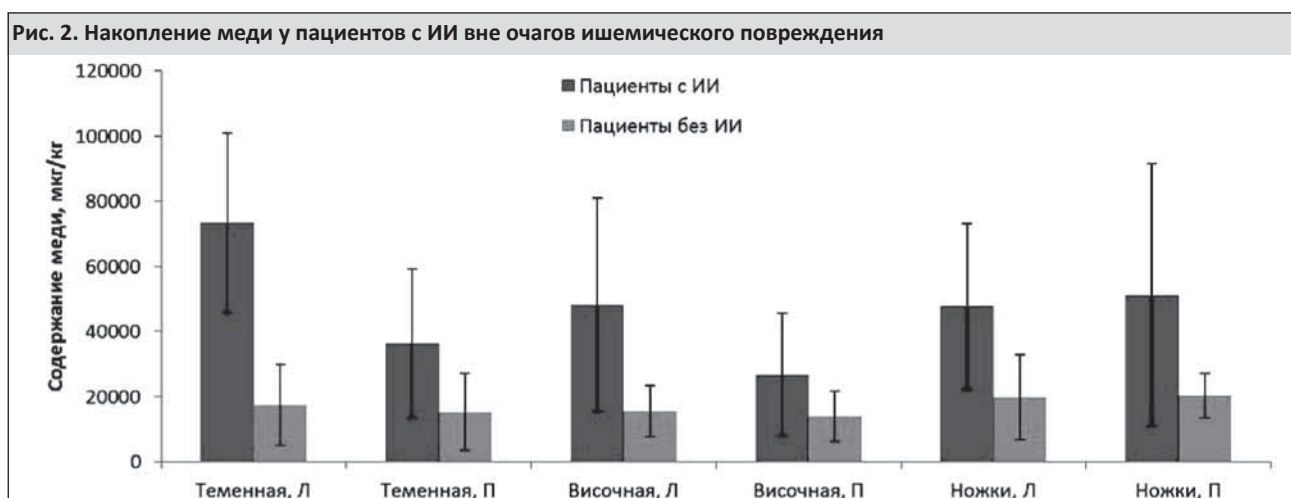
Примечание. Приведены только те нарушения, которые встретились и в правой, и в левой стороне мозга.

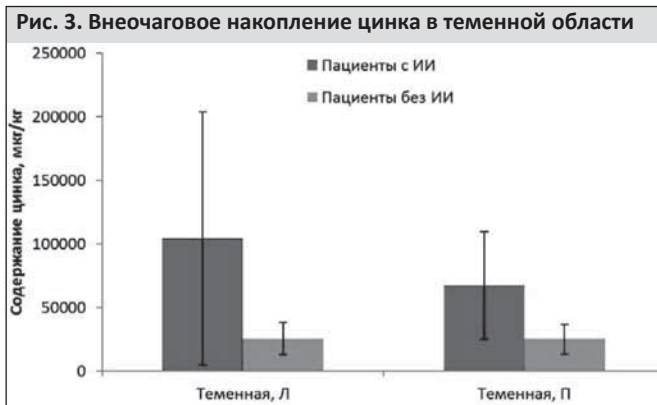
пациентов без ИИ). В то же время во внеочаговых зонах происходит накопление меди (теменной, височной, ножках, рис. 2), цинка (теменная), серебра (височная) и цезия (теменная доля, продолговатый мозг), причем отмеченные изменения в микроэлементном составе характерны и для левой, и для правой половины мозга. Заметим, что накопление меди во внеочаговых отделах у пациентов с ИИ сопровождается некоторым «истощением» содержания меди в очаге.

Из табл. 2 следует, что особое внимание следует уделить накоплению цинка и меди во внеочаговых зонах. Оба микроэлемента необходимы для активации

антиоксидантных ферментов супероксид дисмутаза, обезвреживающих АФК. В частности, медь — эссенциальный микроэлемент, имеющий прямое отношение к процессам клеточного дыхания нейронов: один из ключевых ферментов «дыхательной цепи». К наиболее известным медь-зависимым ферментам относятся цитохром С оксидаза (перенос электронов в дыхательной цепи митохондрий) и Cu/Zn-супероксид дисмутаза (антиоксидантный эффект).

У пациентов с ИИ было установлено внеочаговое накопление цинка (рис. 3). Cu/Zn-супероксид дисмутаза (гены SOD1, SOD2) — ферменты антиоксидантной





защиты организма. К факторам, стимулирующим процесс клеточной гибели нейронов в очаге инсульта, относится избыточная продукция супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$), который может ингибировать эффекты окиси азота (NO), усиливать вазоконстрикцию и ухудшать кровообращение в зоне очага. Одним из источников супероксида является оксигемоглобин, выделяющийся во время разрушения эритроцитов при субарахноидальном кровоизлиянии, геморрагическом инсульте, травматическом повреждении сосудов мозга. Высвобождение супероксида также происходит в результате фагоцитоза, который сопровождает апоптоз.

Деградируя, пероксидный и супероксидный анионы, Cu/Zn-супероксид дисмутаза, наряду с каталазой, обеспечивают защиту организма от АФК и нормализуют процессы воспаления. Известно, что дефицит активности супероксид дисмутаза вследствие генетических дефектов или дефицит цинка и меди приводит к амиотрофическому латеральному склерозу — нейродегенеративному заболеванию моторных нейронов (код по OMIM 105400). Такой дефицит антиоксидантной защиты при инсульте также будет стимулировать процессы избыточного апоптоза нейронов и нейродегенерации.

Cu/Zn-зависимая супероксид дисмутаза 1 (Cu/Zn-COD1, ген SOD1) способствует повышению антиоксидантной защиты нейронов ЦНС при ишемическом инсульте. И наоборот, снижение уровней экспрессии гена SOD1 способствует повышению уровней супероксид аниона в нейронах, повреждениям ДНК и активации апоптоза. В эксперименте имплантация клеток нейронов-предшественников (у которых экспрессия Cu/Zn-COD1 значительно повышена) в область ишемического повреждения уменьшала размер зоны инфаркта и соответствовала улучшению неврологических показателей [27].

Для пациентов без ИИ отношение Cu:Zn составило 0,68 для левой половины мозга и 0,61 для правой половины. В случае ИИ соотношение Cu:Zn в теменной области составило 0,70 для левой половины и 0,54 для правой половины. Данный пример показывает, что, несмотря на существенное увеличение уровней меди при ИИ, при этом не происходит усиления про-

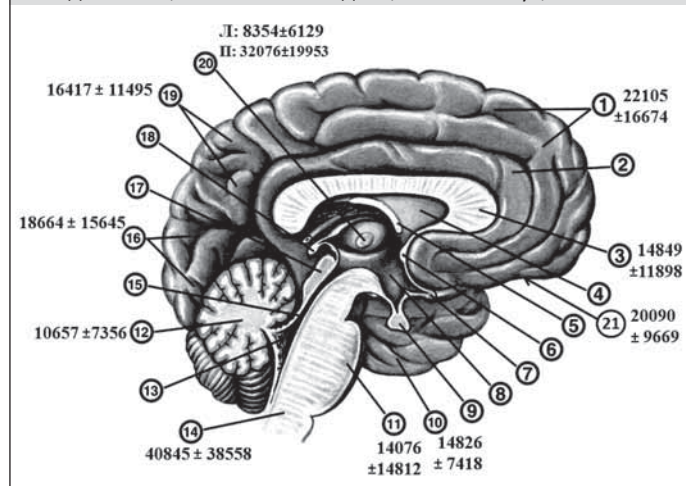
воспалительных реакций. Следовательно, увеличение уровней меди и цинка вне очагов ИИ действительно можно интерпретировать как одну из составляющих защитного, антиоксидантного ответа организма на локальную ишемию.

Компартментализация микроэлементов по различным отделам головного мозга

Полученные данные позволили установить среднее содержание различных МЭ в различных отделах мозга и указали на асимметричность распределения некоторых МЭ. При ИИ и содержание, и симметрия распределения МЭ существенно меняются, причем не только в ишемическом очаге, но и во внеочаговых зонах. Особый интерес представляет достоверность различий в содержании МЭ между отделами мозга (компартментализация МЭ).

Для каждого из исследованных МЭ было получено число корреляций, указывающих на достоверные различия содержания этого МЭ между парами областей мозга. Число достоверных корреляций является своего рода «мерой неравномерности» компартментализации данного элемента, а суммирование этих чисел по всем элементам для заданного отдела мозга характеризует «степень уникальности» МЭ-состава этого отдела (табл. 3). Анализ показала, что областями с наибольшими отличиями в микроэлементном составе от остальных областей мозга являлись таламус, мозжечок и мост. В то же время, мозолистое тело и лобные доли характеризовались наименьшими отклонениями от общего (усреднённого) микроэлементного состава мозга.

Рис. 4. Распределение содержания меди в различных отделах головного мозга (контрольная группа). Здесь и далее: 1 — лобная доля; 2 — поясная извилина; 3 — мозолистое тело; 4 — прозрачная перегородка (septum pellucidum); 5 — свод; 6 — передняя спайка; 7 — зрительный перекрест; 8 — подталамическая область; 9 — гипофиз; 10 — височная доля; 11 — мост; 14 — продолговатый мозг; 13 — четвертый желудочек; 12 — мозжечок; 15 — водопровод мозга; 16 — затылочная доля; 17 — пластинка крыши; 18 — шишковидное тело; 19 — теменная доля; 20 — таламус; 21 — ножки



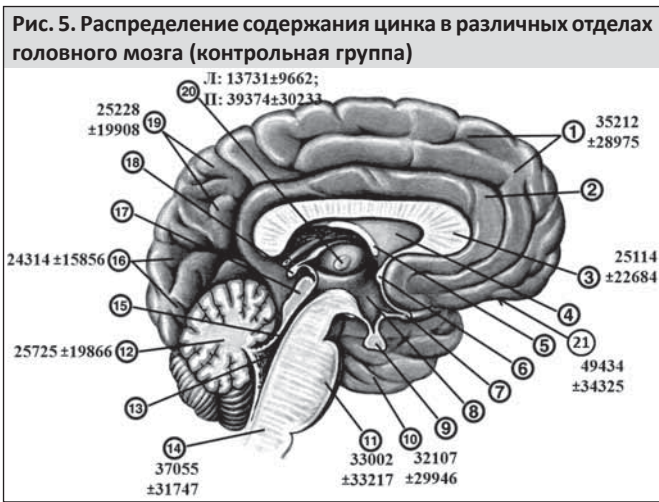


Таблица 3. Числа корреляций, указывающие на достоверные различия в содержании всех МЭ, по отделам мозга

Отдел	Правая половина	Левая половина	Всего
Таламус	77	58	135
Мозжечок	41	75	116
Мост	63	35	98
Височная доля	34	62	96
Затылочная доля	68	24	92
Продолговатый мозг	35	37	72
Ножки мозга	49	19	68
Теменная доля	33	27	60
Лобная доля	17	40	57
Мозолистое тело	29	23	52

Таблица 4. Фоновые микроэлементы, содержание которых одинаково во всех участках мозга обеих половин

МЭ	Элемент	Среднее содержание в головном мозге, мкг/кг	Стандартное отклонение, мкг/кг
Al	Алюминий	18 139	16133
B	Бор	16 608	14460
Se	Селен	6254	6014
Cd	Кадмий	1942	1328
Hg	Ртуть	397	285
Sc	Скандий	202	144
Ga	Галлий	131	94
Br	Бром	130	91
Ti	Титан	118	161
Re	Рений	0,59	0,43
Ir	Иридий	1,42	1,04
Ru	Рутений	7,05	6,02

Примечание. Элементы упорядочены в соответствии со средним содержанием в тканях мозга.

При анализе массива данных было установлено существование фоновых микроэлементов. «Фоновыми» мы назвали микроэлементы, для которых не было установлено достоверных различий не только для асимметрического распределения, но и содержание которых было приблизительно одинаковое во всех участках мозга. Отсутствие достоверных различий позволяет проводить усреднение содержания такого МЭ по всем отделам мозга. Всего было найдено 12 фоновых элементов; наибольшим содержанием характеризовались алюминий, бор и селен (табл. 4).

В то же время в противоположность фоновым МЭ были установлены «неравномерно распределенные» по всему мозгу МЭ, содержание которых было уникально для многих отделов головного мозга. Иначе говоря, каждый из этих элементов содержится в определенном отделе головного мозга в уникальном диапазоне концентраций, специфичном именно для этого отдела мозга. Таковыми элементами являлись стронций, тербий, олово, медь, йод, теллур и другие (табл. 5).

Таблица 5. Микроэлементы, показавшие наибольшую неравномерность распределения и в левой, и в правой половине головного мозга

МЭ	П + Л	П	Л	Отделы мозга с наибольшим числом отличий от всех остальных отделов
Sr	62	40	22	Все, кроме лобной доли
Tb	38	26	12	Все, кроме продолговатого мозга
Sn	36	28	8	Затылочная доля, мост
Cu	32	20	12	Таламус, мост
Te	32	14	18	Затылочная доля, мост
I	30	12	18	Таламус, лобная доля
Dy	30	12	18	Мозжечок, височная доля
Lu	28	18	10	Затылочная доля
Mn	26	20	6	Ножки мозга
Cs	26	14	12	Все
Si	24	16	8	Таламус, теменная доля
Rb	24	16	8	Продолговатый мозг
Ag	24	8	16	Мост, таламус
Au	24	14	10	Мост, таламус

Примечание. Приведены числа достоверных корреляций, указывающих на достоверные различия в содержании данного МЭ по всем отделам мозга. П — данные для правой половины мозга; Л — данные для левой половины.

Помимо фоновых и неравномерно распределенных МЭ, было установлено существование МЭ, содержание которых отличалось только для одной половины мозга, правой или левой, а в другой половине отличий не наблюдалось. Так, неравномерно распределены по правой половине и равномерно по левой были марганец,

молибден, литий и др. (табл. 6); неравномерно распределены по левой половине и равномерно по правой — железо, иттрий, неодим, ванадий и др. (табл. 7).

Таблица 6. Микроэлементы, показавшие наибольшую неравномерность распределения исключительно в правой половине

МЭ	n _{корр}	Отделы мозга с наибольшим числом отличий	Среднее содержание в любом отделе левой половины мозга
Mn	20	Ножки мозга	4251 ± 3924
W	18	Ножки мозга	61 ± 54
Ho	18	Мозжечок, мозолистое тело	1,18 ± 1,03
Hf	16	Продолговатый мозг	8,27 ± 7,22
Mo	14	Ножки мозга	285 ± 185
Er	10	Мозжечок	4,23 ± 3,92
Li	8	Затылочная доля	130 ± 91
Pb	8	Все отделы	3264 ± 3025

Примечание. Приведены числа достоверных корреляций (n_{корр}). В левой половине содержание этих элементов не отличалось между отделами мозга.

Таблица 7. Микроэлементы, показавшие наибольшую неравномерность распределения только в левой половине. В правой половине содержания этих элементов не отличались между отделами мозга

МЭ	n _{корр}	Отделы мозга с наибольшим числом отличий	Среднее содержание в любом отделе правой половины мозга
Fe	22	Височная доля, мост	115 350 ± 100 257
Y	22	Мозжечок	43 ± 34
Nd	20	Мозжечок	22 ± 19
Tl	14	Все отделы	1,74 ± 1,65
Sm	14	Мозжечок, височная доля	4,73 ± 3,98
V	10	Мозжечок	255 ± 137
Zn	8	Таламус	31 006 ± 27 957
Be	8	Все отделы	6,74 ± 6,12

Заключение

1. В работе впервые проведен комплексный сравнительный анализ микроэлементного состава основных участков головного мозга у пациентов, умерших от ишемического инсульта, и пациентов, умерших от других причин. Проведено определение профиля из 59 микроэлементов в левых и правых частях десяти отделов головного мозга (мозжечок, лобная доля, теменная доля, затылочная доля, височная доля, таламус, мост, продолговатый мозг, ножки мозга, мозолистое тело); исследована симметрия распределения МЭ в левой/правой половинах головного мозга.

2. Сравнение микроэлементного состава очагов ишемии с составом зеркально соответствующих участков второй половины мозга показало достоверное снижение четырех лантаноидов (La, Ce, Pr, Nd) в очаговой зоне. Лантаноиды могут оказывать нейропротекторное воздействие за счет антиоксидантного эффекта и модуляции активности кальциевых каналов, поэтому снижение уровней лантаноидов в ишемических очагах создает негативные для выживания нейронов условия.

3. Ишемические очаги с локализацией в теменной области характеризовались снижением уровней всех элементов первой группы периодической системы начиная с меди. Снижение уровней меди, золота и серебра может негативно сказываться на иммуномодуляции; нарушать регуляцию процессов воспаления, а снижение уровней рубидия и цезия может отрицательно сказаться на регуляции артериального давления.

4. Была исследована симметричность распределения элементов между левой и правой частями головного мозга. Установлено, что асимметрия компартментализации МЭ в головном мозге гораздо более выражена при отсутствии ишемических повреждений (группа контроля), чем в случае ИИ. Таким образом, нормофизиологическое состояние головного мозга характеризуется физиологической асимметрией распределения МЭ между левой и правой половинами.

5. При отсутствии ишемических повреждений, отделами мозга с наиболее выраженной асимметрией в распределении МЭ являлись таламус и мост. Правая половина таламуса характеризовалась более высоким накоплением железа, меди, цинка, йода, рубидия, золота, стронция, цезия, а также ванадия и кремния. Левая половина моста концентрировала йод, рубидий, серебро, золото, стронций и цезий.

6. Стронций показал наибольшее число достоверных различий, связанных с асимметрией его распределения в головном мозге: отмечено концентрирование стронция в левых частях мозжечка и моста и в правых частях теменной доли, таламуса и продолговатого мозга.

7. Установлено существование достоверного накопления определенных МЭ при ИИ во внеочаговых зонах головного мозга. Локальная ишемия в любой из исследованных зон мозга приводила к достоверному нарушению содержания восьми МЭ (Cu, Cs, Zn, Sr, Co, Mn, Rb, Ag) во многих внеочаговых зонах.

8. Во внеочаговых зонах происходит накопление меди (теменной, височной долях, ножках мозга), цинка (теменная доля), серебра (височная доля) и цезия (теменная доля, продолговатый мозг), причем отмеченные изменения в микроэлементном составе характерны и для левой, и для правой половины мозга. Цинк и медь необходимы для активации антиоксидантной защиты нейронов; а соотношение Cu:Zn является характеристикой интенсивности воспаления. Несмотря на существенное увеличение уровней меди при ИИ, при этом не происходит усиления провоспалительных реакций.

9. Установлено существование «фоновых» микро-элементов тех, содержание которых практически одинаково во всех участках мозга. Всего было найдено 12 «фоновых» элементов; наибольшим содержанием характеризовались алюминий, бор и селен.

10. В противоположность фоновым МЭ, были установлены неравномерно распределенные по всему мозгу МЭ, содержание которых было уникально для многих отделов головного мозга. Каждый из этих элементов содержится в определенном отделе головного мозга в уникальном диапазоне концентраций, специфичном именно для этого отдела мозга. Таковыми элементами являлись стронций, тербий, олово, медь, йод, теллур и др.

11. Установлено существование МЭ, содержание которых отличалось только для одной половины мозга, правой или левой, а в другой половине отличий не наблюдалось. Неравномерно распределены по правой половине и равномерно по левой были марганец, молибден, литий и др.; неравномерно распределены по левой половине и равномерно по правой — железо, иттрий, неодим, ванадий и др.

Литература

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
2. Громова О.А., Кудрин А.В. Нейрохимия макро- и микро-элементов. Новые подходы к фармакотерапии. — М.: Алев-В, 2001. — 274 с.
3. Forti P., Maioli F., Procaccianti G., Nativio V., Lega M.V., Coveri M., Zoli M., Sacquegnia T. Independent predictors of ischemic stroke in the elderly: Prospective data from a stroke unit // *Neurology*. 2012 Dec 12.
4. Hutter-Paier B., Grygar E., Windish M. Death of telencephalon neurons induced by glutamate is reduced by the peptide derivative Cerebrolysin. 111 // *Neural. Transm.* 1996. Vol.47 (Suppl.). P. 267–27/
5. Торшин И.Ю., Громова О.А. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии. — М.: МЦНМО, 2012. — 685 с.
6. Brown C.E., Dyck R.H. Distribution of zincergic neurons in the mouse forebrain // *J Comp Neurol*. 2004;479(2): 156–167.
7. Reeves P.G., DeMars L.C. Copper deficiency reduces iron absorption and biological half-life in male rats // *J Nutr*. 2004;134(8):1953–1957.
8. Громова О.А. Элементный статус и способы его коррекции у детей с последствиями перинатального поражения ЦНС: Дисс. ... д-ра мед. наук. — Иваново, 2001. — 323 с.
9. Журавлёв Ю.И. Избранные научные труды. — М.: Магистр, 1998. — 416 с.
10. Журавлёв Ю.И., Рудаков К.В., Торшин И.Ю. Алгебраические критерии локальной разрешимости и регулярности как инструмент исследования морфологии аминокислотных последовательностей // *Труды МФТИ*. — 2011. — Т. 3, № 4. — С. 67–76.
11. Журавлёв Ю.И., Назаренко Г.И., Рязанов В.В., Клейменова Е.Б. Новый метод анализа риска развития ишемической болезни сердца на основании геномных и компьютерных технологий // *Кардиология*. — 2011. — № 2. — С. 19–25.
12. Рудаков К.В. О проблемах классификации значений признаков в задачах распознавания. Международная конференция «Интеллектуализация обработки информации» (ИОИ-8) (Кипр, г. Пафос, 17–23 октября 2010 г.).
13. Zhang J., Li Y., Hao X., Zhang Q., Yang K., Li L., Ma L., Wang S., Li X. Recent progress in therapeutic and diagnostic applications of lanthanides // *Mini Rev Med Chem*. 2011;11(8):678–694.
14. Chen J., Patil S., Seal S., McGinnis J.F. Rare earth nanoparticles prevent retinal degeneration induced by intracellular peroxides // *Nat Nanotechnol*. 2006;1(2): 142–50.
15. Beedle A.M., Hamid J., Zamponi G.W. Inhibition of transiently expressed low- and high-voltage-activated calcium channels by trivalent metal cations // *J Membr Biol*. 2002;187(3):225–238.
16. Harris R.A., Loh H.H., Way EL. Antinociceptive effects of lanthanum and cerium in nontolerant and morphine tolerant-dependent animals // *J Pharmacol Exp Ther*. 1976;196(2): 288–297.

Полный список использованной литературы
см. на сайте <http://logospress.ru/zvrach>

Comparative analysis of the trace element profiles of the 10 brain regions in ischemic stroke and without the ischemic injury

Z.K. Zangieva, E.I. Gusev, O.A. Gromova, I.Yu. Torshin, A.A. Nikonov, A.P. Raksha, A.Yu. Volkov
Russian State Medical University, Moscow
Russian branch of the Trace element institute for UNESCO, Moscow.

Upsetting the balance of the trace elements (TE) increases the risk of cerebrovascular diseases including ischemic stroke (IS). Considering the multifaceted neurological roles of the trace elements, the study of normal physiological and pathophysiological patterns of distribution of the trace elements in the central nervous system is of great interest. In the present work for the first time we performed a comprehensive comparative analysis of the trace element composition of the major parts of the brain in patients who died of ischemic stroke (n = 6), and patients who died from other causes (n = 5). A comparative analysis of the profiles of trace elements in areas of IS and in the mirror hemispheres, of the right-left asymmetry in the distribution of trace elements in patients with ischemic stroke and without IS was performed and the maps of the distribution of trace elements in different parts of the brain were established. We found that there are some "background" of trace elements — those whose content is almost the same in all regions of the brain. It is shown that the asymmetry of compartmentalization of the TE in the brain is much more pronounced in the absence of ischemic lesions (the control group) than in the case of IS. Local ischemia in any of the studied areas of the brain leads to a significant change of the content of the eight TE (Cu, Cs, Zn, Sr, Co, Mn, Rb, Ag) in many extrafocal areas. From these elements, zinc and copper, for instance, are required for activation of the antioxidant protection of neurons. In general, the results reveal a complex picture of trace element homeostasis in the brain.

Key words: trace elements, the brain, ischemic stroke, neuroprotection, lanthanides.