

**Г.Н. Жданов, М.М. Герасимова****ОЦЕНКА РОЛИ АУТОИММУННОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ  
РЕАКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ***Тверская государственная медицинская академия*

Реферат. Проведено мониторирование содержания антител к дезоксирибонуклеиновой кислоте в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови в динамике острого ишемического инсульта. Отмечено достоверное повышение уровня антител к дезоксирибонуклеиновой кислоте в первые сутки острой церебральной ишемии как в сыворотке крови, так и в цереброспинальной жидкости, которые нарастают до 10-го дня, а затем снижаются, причем чем выше уровень антител, тем более выражен неврологический дефицит и хуже прогноз. Проведенное клинико-иммунологическое исследование подтвердило роль аутоиммунных реакций, вызываемого ими локального воспаления в патогенезе ишемического инсульта и формировании инфарктных изменений в ткани мозга.

Г.Н.Жданов, М.М.Герасимова

**ЦЕРЕБРАЛЬ ИШЕМИЯ ПАТОГЕНЕЗЫНДА  
АУТОИММУН ЯЛКЫНСЫНУ РЕАКЦИЯСЕНЕН  
ӨЪМЯЯТЕНӨ БӨЯ БИРУ**

Баш миенә ишемия кан савуы динамикасында церебро арка сыеклыгындагы һәм кан сыворткасындагы дезоксирибонуклеин кислотасына антитәнчекләренң нн дәрәжәдә булуын мониторлаштыру үткәрелгән. Церебраль ишемия белән каты авыруның беренче тәүлегендә кан сыворткасында да, церебраль арка сыеклыгында да дезоксирибонуклеин кислотасына антитәнчекләренң күләме чын-чынлап артуы күрсәтелә. Алар 10 көнгә кадәр арта, аннары кими, антитәнчекләр күләме югары булган саен, неврологик житешмәүчәнлек ачыграк чагыла һәм алга таба авыруның хәле начар була. Клиник-иммунологик тикшеренү нәтижеләре аутоиммун реакцияләренң тоткан урынын раслады. Алар ишемия инсульты патогенезында локаль ялкынсынганда һәм баш мие тукымаларында инфаркт үзгәрешләре формалашканда барлыкка килә.

G.N. Zhdanov, M.M. Gerasimova

**ROLE EVALUATION OF AUTOIMMUNE  
INFLAMMATORY REACTION IN CEREBRAL  
ISCHEMIA PATHOGENESIS**

Monitoring of contents of antibodies to deoxyribonucleic acid in cerebrospinal fluid and in blood serum at dynamics of acute ischemic insult has been done. It was noticed a reliable increase of antibody level to deoxyribonucleic acid during the first 24 hours of cerebral ischemia both in the blood serum and in the cerebrospinal fluid. Increase is shown until the 10<sup>th</sup> day, and then there is a decrease. It should be noted that the higher antibody level is — the more neurology deficit is expressed and the prognosis is worse. The performed clinical and immunologic study confirmed a role of autoimmune reactions and caused by them a local inflammation in pathogenesis of ischemic insult and infarction alterations formations in the brain tissue.

**И**шемический инсульт (ИИ) — это наиболее частая форма острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК), которая может привести к летальному исходу и тяжелой инвалидизации [1, 2, 7, 10, 11, 18, 20]. Несмотря на длительность изучения данной проблемы патогенез этого патологического состояния недостаточно разработан, что стимулирует поиск новых патофизиологических механизмов развития ишемического инсульта. В настоящее время показано, что в патогенезе формирования ИИ важную роль играют глутаматкальциевый каскад и феномен эксайтотоксичности [9, 17, 22]. В результате данных патофизиологических процессов происходит запуск механизмов вторичного повреждения, среди которых наиболее важное значение имеют аутоиммунная агрессия и вызываемая ее реакция локального воспаления [3, 4, 5, 6, 10, 16, 19]. Однако, несмотря на обширный экспериментальный материал, в литературе встречаются лишь единичные упоминания о клинических исследованиях, посвященных изучению феномена локального воспаления и его роли при острой церебральной ишемии [10, 21, 23, 24]. В связи с этим представляет интерес изучение роли аутоиммунного процесса и вызываемого им реакции локального воспаления в патогенезе церебральной ишемии.

Цель настоящего исследования — изучение роли аутоиммунной воспалительной реакции в патогенезе церебральной ишемии.

Нами были обследованы 150 пациентов, поступивших в отделение в первые сутки с момента развития инсульта, — 67 (44,6%) мужчин и 83 (55,3%) женщины. Больные были в возрасте от 30 до 80 лет. Средний возраст составлял  $61,56 \pm 0,73$  года. В работоспособном возрасте (до 65 лет) находились 43% человек. Было проведено общеклиническое, неврологическое, инструментальное, биохимическое и иммунологическое обследования.

Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита были использованы две взаимодополняющие клинические балльные шкалы: Оргогозо (25) — с колебаниями от 0 до 100 баллов, а также оригинальная клиническая Е.И. Гусева и В.И. Скворцовой (8) — от 0 до 49 баллов. Инструментальные методы обследования включали эхоэнцефалоскопию, обзорную краниографию и КТ. Использование данных методов обследования позволяли исключить ЧМТ и объемные процессы в полости черепа. Клинико-лабораторное обследование предусматривало проведение клинических анализов цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), крови, мочи, а также биохимических — определение основного маркера воспалительных реакций, а именно С-РБ унифицированным методом кольцепреципитации в капиллярах, показателей углеводного (глюкоза) и липидного (общий холестерин,  $\beta$ -липопротеиды) обмена.

Иммунологическое исследование для оценки уровня антител к ДНК в ЦСЖ и сыворотке крови (СК) проводили в первые часы с момента развития инсульта, на 10 и 21-е сутки, используя твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) с помощью тест-системы кардиоцентра (г. Москва). Сыворотки для ИФА использовались в разведении 1:100. Проведение ИФА заключалось в промывке планшета моющим раствором один раз по 150 мкл на лунку, внесении сыворотки в лунки A1 и A2 по 50 мкл раствора для разведения, в лунки B1 и B2 по 50 мкл положительной контрольной сыворотки, в лунки C1 и C2 по 50 мкл отрицательной контрольной сыворотки, в следующие пары лунок по 50 мкл исследуемых сывороток для определения в дублях. Планшеты подвергали инкубации сроком на один час при комнатной температуре, затем их повторно промывали моющим раствором 3 раза по 150 мкл на лунку. Вносили в каждую лунку по 50 мкл пероксидазного конъюгата и после повторной инкубации, в течение часа при комнатной температуре, вновь промывали моющим раствором и вносили в каждую лунку по 50 мкл субстрата для окрашивания (ОФД). Повторно инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте до появления в лунках желтого окрашивания разной интенсивности. В лунках A1 и A2 окрашивание не развивалось. Реакцию останавливали путем добавления в каждую лунку по 50 мкл 50% серной

кислоты. Результаты исследований определяли в условных единицах оптической плотности (ОП) на спектрофотометре "Multiskan" в планшетах при длине волны 492 нм. При правильно проведенном анализе среднее значение ОП в лунках с положительной контрольной сывороткой должно быть выше, чем в лунках с отрицательной контрольной сывороткой, не менее чем на 0,5 единиц ОП.

В исследование не включали лиц с острыми воспалительными, дегенеративными заболеваниями, черепно-мозговой травмой, коллагенозами.

Статистическую обработку осуществляли при помощи параметрических методов вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, проводили корреляционный анализ.

Диагноз ИИ устанавливали на основании субъективной и объективной неврологической симптоматики, а также дополнительных методов обследования. Нарушение мозгового кровообращения в системе внутренней сонной артерии отмечалось у 86% обследованных, в вертебробазилярной системе — у 14%. Основными этиологическими факторами ИИ являлись атеросклероз — у 25,92%, артериальная гипертония — у 34,25%, их сочетание — у 26,85%. У 9,33% больных имел место сахарный диабет, у 45,33% — ишемическая болезнь сердца с различными нарушениями ритма. У 2 больных инсульт развился на фоне острого инфаркта миокарда (кардиocereбральный синдром). В 13% случаев причину установить не удалось. Во время сна ИИ произошел у 19% больных, в момент пробуждения и через некоторое время — у 48%, днем — у 33%.

В первые 3—6 часов с момента развития инсульта в отделение поступили 60,1% пациентов, в течение 7—12 часов — 30%. Остальные больные были доставлены позже. В зависимости от тяжести состояния были выделены 2 группы пациентов. В 1-ю группу вошли 72 (48,2%) человека с ИИ средней тяжести (суммарный клинический балл по шкале Оргогозо и оригинальной клинической — соответственно  $38,2 \pm 2,6$  и  $29,6 \pm 0,6$ ). В клинической картине преобладали очаговые неврологические симптомы, сопровождавшиеся нерезко выраженной общемозговой симптоматикой. 2-ю группу составили 78 (51,8%) больных с тяжелым ИИ (суммарный клинический балл по применявшимся шкалам составил соответственно  $54,6 \pm 2,9$  и  $37,1 \pm 0,39$ ). Состояние больных характеризовалось очаговыми и общемозговыми симптомами

различной выраженности и угнетением сознания. В контрольной группе было 20 практически здоровых лиц аналогичного возраста и пола.

Уровень антител к ДНК в СК в контрольной группе составлял  $0,196\pm0,01$  ед. ОП и в ЦСЖ —  $0,137\pm0,01$  ед. ОП. Достоверных различий в значении этих показателей у мужчин и женщин в этой группе не выявлено ( $p>0,05$ ).

У больных в 1-е сутки с момента развития ИИ выявлялся сдвиг лейкоцитарной формулы влево с увеличением числа палочкоядерных нейтрофилов ( $10,5\pm1,25\%$ ) при нормальном содержании лейкоцитов ( $7,35\pm0,67\cdot10^9/\text{л}$ ). В ЦСЖ отклонений от нормы не обнаружено. Исследование белка в острой фазе у пациентов показало положительные результаты в СК на 1 и 10-е сутки и в ЦСЖ на 1-е сутки. Повышение уровня общего холестерина и  $\beta$ -липопротеидов выявлено в тех случаях, когда этиологическими факторами были атеросклероз (соответственно  $7,62\pm0,15$  мм/л и  $6,23\pm0,86$  г/л) и его сочетание с артериальной гипертонией ( $7,17\pm0,41$  мм/л и  $6,47\pm0,75$  г/л). У пациентов с артериальной гипертонией показатели липидного обмена оставались в пределах нормы.

При иммунологическом исследовании в 1-е

ДНК в ЦСЖ обнаружено на 10-е сутки — до  $0,598\pm0,01$  ед. ОП. На 10-е сутки титр антител к ДНК в ЦСЖ был выше, чем в СК. Клинические ограничения не позволили определить дальнейшую динамику титров антител в ЦСЖ, хотя теоретически можно было предположить их снижение (рис. 1).

Содержание антител к ДНК в 1-е сутки в СК и ед. ОП

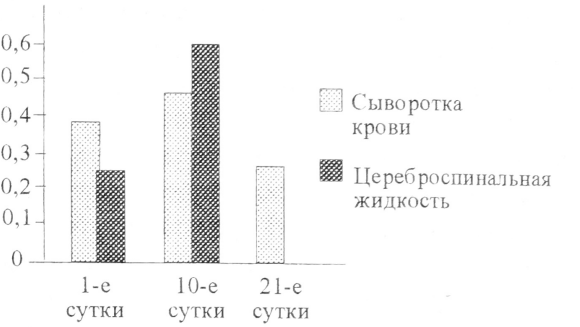


Рис. 1. Динамика содержания антител к ДНК в остром периоде ИИ у обследованных пациентов.

ЦСЖ у больных с тяжелым и крайне тяжелым ИИ было достоверно выше, чем при ИИ средней тяжести (табл. 2). Таким образом, установлена зависимость уровня антител к ДНК в крови и ЦСЖ от тяжести ИИ: чем выше концентрация антител к ДНК, тем тяжелее состояние больных (коэффициент корреляции  $+0,7\pm0,01$ ). Этот факт имеет прогностическую значимость.

Таблица 1  
Содержание антител к ДНК (ед. ОП) в первые сутки острого периода ИИ ( $M\pm m$ )

Антитела к ДНК (ед. ОП)	Группы		p
	контрольная (n=20)	основная (n=45)	
СК	$0,196\pm0,01$	$0,380\pm0,02$	$<0,001$
ЦСЖ	$0,137\pm0,01$	$0,250\pm0,02$	$<0,001$

сутки с момента развития ИИ установлено достоверное ( $p<0,001$ ) повышение уровня антител к ДНК как в СК, так и в ЦСЖ по сравнению с контролем (табл. 1). Полученные результаты свидетельствовали о более высоком уровне антител к ДНК в СК по сравнению с таковым в ЦСЖ в острейшем периоде ИИ. При этом уровень антител в СК оказался достоверно выше, чем в ЦСЖ ( $p<0,001$ ). Значимых различий содержания антител к ДНК в зависимости от пола и возраста не выявлено ( $p>0,05$ ).

Содержание антител к ДНК в СК достигало максимума к 10-м суткам заболевания инсульта —  $0,460\pm0,03$  ед. ОП, что на 134% выше показателей в контрольной группе ( $p<0,001$ ). К концу острого периода (21-е сутки) этот показатель значительно снижался — до  $0,280\pm0,01$  ед. ОП, однако достоверно на 46% превышал контроль ( $p<0,05$ ).

Значительное повышение уровня антител к

Таблица 2  
Уровень иммунологических показателей (ед. ОП) в СК и ЦСЖ в зависимости от степени тяжести ИИ ( $M\pm m$ )

Группы пациентов	СК	ЦСЖ	p
1-я	$0,353\pm0,02$	$0,545\pm0,02$	$<0,001$
2-я	$0,447\pm0,02$	$0,590\pm0,01$	$<0,001$

К концу острого периода ИИ (21-е сутки) у 28% пациентов имело место хорошее восстановление нарушенных функций, у 23,3% — неполное, соответствовавшее умеренной инвалидности, у 33,7% — выраженная инвалидизация; летальность составляла 16%. При этом в 1-й группе (ИИ средней тяжести) к концу острого периода хорошее восстановление нарушенных функций было зафиксировано у 41,1% больных, частичный регресс неврологического дефицита (умеренная инвалидизация) — у 35%, тяжелая инвалидизация — у 24%. Во 2-й группе — при инсульте

тяжелой степени у 23% больных отмечалась умеренная и у 47% резкая инвалидизация; летальность достигала 30%.

Сопоставление титра антител к ДНК в СК в 1-е сутки ИИ и результатов ретроспективного анализа его динамики к концу острого периода заболевания, с одной стороны, и исхода инсульта — с другой позволило определить наиболее значимые прогностические критерии (рис. 2). Установлена прогностическая значимость степени повышения титра антител к ДНК в 1-е сутки инсульта: более высокий титр ассоциировался с тяжелым течением инсульта и неблагоприятным исходом ( $p < 0,001$ ). У пациентов с хорошим восстановлением неврологических функций определялся более низкий уровень антител к ДНК в СК, тогда как у пациентов с умеренными и грубыми признаками инвалидизации он был на 45% выше. Это подчеркивает неблагоприятную прогностическую значимость высокого уровня антител к ДНК в первые сутки ИИ.

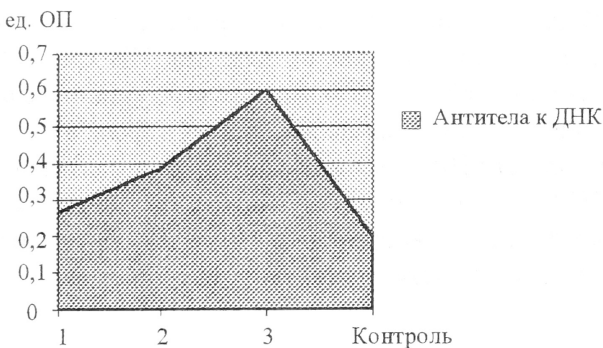


Рис. 2. Зависимость между титром антител к ДНК в СК в 1-е сутки ИИ и его исходом.

1 — минимальный дефект или выздоровление, 2 — тяжелый неврологический дефект, 3 — летальный исход.

Таким образом, клинико-иммунологическое исследование подтвердило роль аутоиммунных реакций, вызываемого ими локального воспаления в патогенезе ИИ и формировании инфарктных изменений в ткани мозга. Установлено достоверное повышение титра антител к ДНК в СК и ЦСЖ у больных с первых часов развития ИИ и прогностическое значение величины и длительности этого повышения для определения степени тяжести течения и исхода заболевания. Обнаружение в первый день ИИ высокого титра антител к ДНК свидетельствует о неблагоприятном прогнозе в отношении как выздоровления, так и жизни. Установленные достоверные иммунологические критерии объективизации тяжести течения и исхода инсульта могут быть

использованы в клинической практике врача-невролога.

С первых минут острой фокальной ишемии вследствие деятельности сложного каскада микроциркуляторно-клеточных реакций происходят гибель нервной ткани и нарушение проницаемости ГЭБ. Деструкция клеток мозга и возникновение неадекватной проницаемости ГЭБ ведут к выходу органонеспецифических белков из пораженной ткани, проникновению их в кровь и накоплению в ЦСЖ [12]. Утрата иммунной толерантности к белковым компонентам мозга влечет за собой развитие аутоиммунной реакции [13].

Являясь единственным иммунокомпетентным компонентом в ЦНС, микроглия участвует во всех реакциях ткани мозга на ишемию [19, 22, 23]. Ишемический процесс активирует микроглиальные клетки, приводя их в состояние готовности к иммунному ответу. Органонеспецифические аутоантитела, воздействуя на микроглию, продуцируют и поддерживают воспалительную реакцию в очаге ишемии, окружающей зону первичного некроза. Образование комплексов антиген-антитело активизирует систему комплемента, что еще больше индуцирует иммунное воспаление и вызывает нарушение микроциркуляции и проницаемости ГЭБ.

Доформирование очага инфаркта в значительной мере связано с реакцией локального воспаления и агрессивным воздействием органонеспецифических аутоантител, участвующих в механизмах клеточного апоптоза ткани мозга в зоне ишемической пенумбры. Уровень аутоантител оставался достоверно повышенным в течение острого периода инсульта, что свидетельствовало об интенсивности воспалительных реакций.

Исследование показало, что традиционный маркер соматических воспалительных процессов С-РБ, как и аутоантитела, отражает активность ишемического процесса в мозге и подтверждает развитие воспалительной реакции [14, 15]. Локальное аутоиммунное воспаление, реакция окислительного стресса, глутамат-кальциевый каскад и феномен эксайтотоксичности замыкают порочный круг, что формирует мозговую недостаточность.

С учетом полученных результатов можно обоснованно рекомендовать в качестве патогенетической терапии применение препаратов



нейропротекторов, направленных на уменьшение выраженности локальной воспалительной реакции и активацию защитных противовоспалительных систем. Это позволит ограничить область инфарктных изменений в мозге и значительно повысить эффективность лечения больных с острым ИИ и таким образом улучшить клинический исход заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Верецагин Н.В., Пирадов М.А. // Неврол. журн. — 1999. — №5. — С. 4—7.
2. Виленский Б.С. Инсульт: профилактика, диагностика и лечение. СПб, 1999.
3. Ганнушкина И.В., Александров В.Г., Зарецкая И.Х. Состояние аутоаллергии и нервной ткани и так называемый воспалительный синдром при нарушении мозгового кровообращения. / Мат. симпози., посвящен. патоген. приходящих ишемий и инфарктов мозга. — М., 1968. — С. 73.
4. Ганнушкина И.В. // Журн. невропатол. и психиатр. — 1996. — №1. — С. 14—18.
5. Герасимова М.М., Жданов Г.Н. Аутоиммунный процесс при ишемическом инсульте. / VIII Всероссийский съезд неврологов (материалы съезда). — Казань, 2001. — С. 219.
6. Герасимова М.М., Жданов Г.Н., Антипина Ю.В. Роль органонеспецифических антител в патогенезе церебральных инсультов. / Труд. межобластн. научно-практич. конф. невропатол., нейрохирургов, детских неврол. и психиатр. — Киров, 2001. — С. 22—23.
7. Гусев Е.И. Ишемическая болезнь головного мозга. / Актовая речь. Российский государственный медицинский университет. — М., 1992. — С. 48.
8. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Медицинская карта стационарного больного. — М., 1990. — С. 1—44.
9. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Коваленко А.В. и др. // Журн. неврол. и психиатр. — 1999. — №2. — С. 65—70; №5. — С. 55—61.
10. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. — М., 2001.
11. Жданов Г.Н. Клиническая характеристика и патофизиологические механизмы ишемического инсульта. Дисс. ... канд. мед. наук — М., 2001.
12. Козырь А.В. Исследование функциональных свойств аутоантител к ДНК: Автореф. дисс... канд. биол. наук. — М., 1999.
13. Малашиха Ю.А. Иммуный барьер мозга. — М., 1986.
14. Насонова В.А., Астапенко М.Г. Клиническая ревматология. — М., 1989.
15. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Л.П. Васкулиты и васкулопатии. — Ярославль, 1999.
16. Скворцова В.И., Насонов Е.А., Журавлева Е.Ю. и др. // Журн. неврол. и психиатр. — 1999. — №5. — С. 27—31.
17. Скворцова В.И., Шерстнев В.В. Грудень М.А. и др. // Журн. неврол. и психиатр. (приложение к журналу). — Инсульт, 2001. — Вып. 1. — С. 46—54.
18. Трошин В.Д., Густов А.В., Трошин О.В. Острые нарушения мозгового кровообращения. — Н. Новгород, 2000.
19. Baron J.C., van Kurnmer R., del Zoppo G.J. // Stroke. — 1995. — Vol. 26. — P. 2219—2221.
20. Bullerworth R.J., Sherwood R.A., Bath P.V. // Stroke. — 1998. — Vol. 29. — P. 730.
21. Caplan L.R. (Ed.) Brain ischemia: basic concepts and clinical relevance / London, Springer-Verlag. — 1995. — P. 380.
22. Chen S.C., Soares H.D., Morgan J.J. // Adv. Neurol. — 1996. — Vol. 71. — P. 433—450.
23. Fisher M.J. // Brain ischemia. — London, 1995.
24. Graeber M.D., Streit W.J. // Brain. Pathol. — 1990. — Vol. 1. — P. 2—5.
25. Orgogozo J.M., Dartigues J.F. Acute Brain ischemia Medical and Surgical Therapy N. Battistine et. Al. — N.-Y., 1986.

Поступила 05.09.03.

