

# **Neuroprotection**

## **Models, Mechanisms and Therapies**

Edited by  
Mathias Bahr



WILEY-  
VCH

WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

# Оглавление

Предисловие . . . . .	5
Благодарность . . . . .	8
<b>Часть I. НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ – ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКИЙ ОБЗОР И МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ</b>	
<b>1. Инсульт . . . . .</b>	<b>9</b>
Резюме . . . . .	9
1.1. Введение . . . . .	10
1.2. Концепция полутени . . . . .	13
1.3. Эксайтотоксичность . . . . .	14
1.4. Свободные кислородные радикалы . . . . .	15
1.5. Тканевой ацидоз . . . . .	15
1.6. Периинфарктная деполяризация . . . . .	17
1.7. Воспаление . . . . .	17
1.8. Повреждение гематоэнцефалического барьера . . . . .	20
1.9. Программированная клеточная смерть и апоптоз . . . . .	21
1.10. Вызванное ишемией повреждение ДНК, восстановление ДНК и p53, как генотоксический сенсор . . . . .	24
1.11. Эпигенетические факторы . . . . .	26
1.12. Экспрессия генов . . . . .	27
1.13. Замещение клеток . . . . .	29
1.14. Эндогенная нейропротекция – толерантность к ишемии . . . . .	30
1.15. Вызванное инсультом ослабление иммунитета (SIDS) . . . . .	32
1.16. Заключение . . . . .	34
Литература . . . . .	34
<b>2. Болезнь Паркинсона . . . . .</b>	<b>44</b>
2.1. Эпидемиология болезни Паркинсона . . . . .	45
2.1.1. Роль генетических факторов . . . . .	45
2.1.2. Факторы окружающей среды . . . . .	47

2.2.	Оксидантный стресс при болезни Паркинсона	47
2.3.	Роль альфа-синуклеина при болезни Паркинсона	48
2.3.1.	Альфа-синуклеин в тельцах Леви	49
2.3.2.	Альфа-синуклеин и оксидантный стресс	50
2.4.	Роль протеасом при болезни Паркинсона	52
2.4.1.	Роль паркина в болезнь Паркинсона	53
2.5.	Другие гены, участвующие в развитии семейной формы болезни Паркинсона	56
2.6.	Нейротоксические модели болезни Паркинсона	56
2.6.1.	Оксидантный стресс	57
2.6.2.	Дофаминовый гомеостаз / Комплекс I	57
2.6.3.	Протеасомы	58
2.7.	Генетические модели болезни Паркинсона	59
2.7.1.	Трансгенные животные с избыточной экспрессией альфа-синуклеина	59
2.7.2.	Паркин-связанные генетические модели	60
2.7.3.	Вирусные векторы для <i>in vivo</i> генного трансфера связанных с заболеванием белков в ЦНС	61
2.7.3.1.	Локальная избыточная экспрессия альфа-синуклеина	61
2.7.3.2.	Локальная избыточная экспрессия паркин-связанных белков	63
	Благодарность	63
	Литература	63
<b>3.</b>	<b>Боковой амиотрофический склероз</b>	<b>68</b>
3.1.	Заболевания мотонейрона у человека	68
3.1.1.	Семейная форма БАС, связанная с мутациями SOD1	70
3.1.2.	Ювенильный БАС, связанный с мутациями <i>alsin 'a</i>	70
3.2.	Модели дегенерации мотонейронов в культуре клеток	70
3.2.1.	Линии нейрональных клеток	71
3.2.2.	Изолированные культуры мотонейронов	71
3.2.3.	Органотипические культуры	72
3.3.	Модели заболеваний мотонейрона у животных	74
3.3.1.	Модели аксотомии	74
3.4.	Мыши с мутантным SOD1	75
3.4.1.	<i>pnn</i> -Мыши	80
3.5.	Дальнейшие стратегии нейропротекции	81
3.5.1.	Защита аксонов	81
3.5.2.	Выведение мутантного SOD1 посредством РНК-вмешательства	82
3.6.	Заключение	82
	Литература	83
<b>4.</b>	<b>Болезнь Альцгеймера и другие нейродегенеративные заболевания</b>	<b>90</b>
	Сокращения	90
	Резюме	90
4.1.	Введение	91
4.2.	Трансгенные беспозвоночные животные	92
4.3.	Трансгенные мыши	93
4.3.1.	Промотор тирозингидроксилаза (ТГ)	93
4.3.2.	Промотор тромбоцитарного фактора роста-β (ТФР-β)	93
4.3.3.	Промотор фактора Thy1	94
4.3.4.	Промотор прионного белка	95
4.3.5.	Глиальная экспрессия	96

4.4. Вирусные модели . . . . .	97
4.5. Заключение и основные принципы . . . . .	98
Литература . . . . .	98
<b>5. Воспаление ЦНС . . . . .</b>	<b>104</b>
5.1. Введение . . . . .	104
5.2. Патологические характеристики бляшек МС . . . . .	105
5.3. Аксональная патология при МС . . . . .	106
5.4. Нейрональная патология при множественном склерозе . . . . .	108
5.5. Уроки, полученные из моделей на животных . . . . .	109
Литература . . . . .	110
<b>6. Травма нервной системы . . . . .</b>	<b>114</b>
6.1. Введение . . . . .	114
6.2. Модели <i>in vivo</i> . . . . .	115
6.2.1. Модели статического повреждения головного мозга . . . . .	116
6.2.2. Модели динамического повреждения головного мозга . . . . .	117
6.2.2.1. Непрямое динамическое повреждение головного мозга . . . . .	117
6.2.2.2. Прямое динамическое повреждение головного мозга . . . . .	118
Ударное повреждение головного мозга . . . . .	118
Проникающее повреждение головы/прямая деформация головного мозга . . . . .	118
а) Модели жидкостной перкуссии . . . . .	118
б) Модели контролируемого кортикального ушиба . . . . .	120
в) Другие модели прямой деформации головного мозга . . . . .	121
г) Высокоскоростное повреждение, наносимое снарядом . . . . .	121
Непроникающая/закрытая черепно-мозговая травма . . . . .	122
а) Модели контролируемого сотрясения головного мозга . . . . .	122
б) Модели ударного ускорения . . . . .	123
Модели повреждения головы, полученные в результате неударного ускорения . . . . .	125
6.2.3. Модели комбинированной травмы нервной системы . . . . .	127
6.3. Модели <i>in vitro</i> . . . . .	128
6.3.1. Повреждения, вызванные сдавлением . . . . .	131
6.3.1.1. Модели растяжения . . . . .	131
6.3.2. Модели повреждения вследствие сдавления . . . . .	133
6.3.2.1. Модель с применением падающего груза . . . . .	133
6.3.2.2. Модели с применением гидростатического давления . . . . .	133
6.3.2.3. Модели с применением гидродинамического удара . . . . .	134
6.3.3. Модели повреждения, вызванного смещением . . . . .	134
6.3.3.1. Модели ускорения . . . . .	134
6.3.3.2. Гидродинамические модели . . . . .	135
6.3.3.3. Модели первичной аксонотомии/рассечения . . . . .	136
а) Модели с использованием стилета . . . . .	136
б) Модели соскребания/раздавливания (Scribe/Punch) . . . . .	136
в) Модели рассечения с использованием лазера . . . . .	137
6.4. Заключение . . . . .	138
Литература . . . . .	139
<b>7. Травма спинного мозга . . . . .</b>	<b>153</b>
7.1. Неотложная нейропротекция (предупреждение смерти нейронов) . . . . .	156
7.2. Регенерация волокон нервных путей (инициация роста после повреждения) . . . . .	157

7.2.1.	Внешние механизмы . . . . .	157
7.2.1.1.	Глиальный рубец . . . . .	158
7.2.1.2.	Блокада образования глиального рубца . . . . .	158
7.2.1.3.	Модификация ингибирующих рост молекул . . . . .	159
7.2.1.4.	Селективное удаление астроцитов . . . . .	162
7.2.2.	Внутренний нейрональный контроль регенерации . . . . .	162
7.2.2.1.	Возраст нейронов . . . . .	162
7.2.2.2.	Место пересечения . . . . .	163
7.2.2.3.	Вариабельность нейронов . . . . .	164
7.3.	Образование мостиков, кист, рубцов и клеточное замещение . . . . .	164
7.4.	Замещение погибших нейронов . . . . .	166
7.4.1.	Трансплантация нервной ткани . . . . .	166
7.4.2.	Замещение погибших нейронов стволовыми клетками . . . . .	166
7.5.	Лечение демиелинизации . . . . .	167
7.6.	Усиление пластичности . . . . .	168
7.7.	Дальнейшие перспективы . . . . .	169
	Литература . . . . .	171

## Часть II. КЛЕТЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

<b>8.</b>	<b>Апоптоз и некроз . . . . .</b>	<b>178</b>
8.1.	Введение . . . . .	178
8.2.	Апоптоз и некроз . . . . .	179
8.3.	Генетика апоптоза и связанных с ним белков . . . . .	181
8.3.1.	<i>Caenorhabditis Elegans</i> как модельная система . . . . .	181
8.3.2.	Каспазы . . . . .	183
8.3.3.	Антиапоптозные белки . . . . .	185
8.4.	Клеточные механизмы апоптоза . . . . .	192
8.4.1.	Роль митохондрий и апоптосомного комплекса . . . . .	193
8.4.2.	Клеточная смерть при нейродегенеративных заболеваниях . . . . .	195
	Литература . . . . .	195
<b>9.</b>	<b>Воспаление . . . . .</b>	<b>202</b>
9.1.	Введение . . . . .	202
9.2.	Врожденные иммунные ответы в ЦНС . . . . .	205
9.3.	Двойной механизм врожденного иммунитета в ЦНС . . . . .	206
9.4.	Антигенное презентирование для врожденных иммунных ответов в ЦНС . . . . .	206
9.5.	Регуляция приобретенных иммунных ответов в ЦНС . . . . .	209
9.6.	Иммунный контроль за ЦНС Т-лимфоцитами . . . . .	211
9.7.	Эффекторные механизмы лимфоцитов . . . . .	212
	Благодарность . . . . .	217
	Приложение 1. Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит – прототипическая модель аутоиммунного заболевания головного мозга . . . . .	217
	Литература . . . . .	219
<b>10.</b>	<b>Метаболические расстройства . . . . .</b>	<b>224</b>
10.1.	Введение . . . . .	224
10.2.	Нарушения энергетического метаболизма . . . . .	225
10.2.1.	Производство энергии и обновление . . . . .	225
10.2.2.	Сокращение поставки кислорода . . . . .	225

10.3. Нарушения взаимосвязи кровотока и метаболизма . . . . .	228
10.4. Нарушения функции митохондрий . . . . .	229
10.5. Важность нарушенного метаболизма энергии для развития повреждений . . . . .	230
10.5.1. Глобальная ишемия головного мозга . . . . .	230
10.5.2. Фокальная ишемия головного мозга . . . . .	233
10.5.3. Эпилептические приступы . . . . .	234
10.5.4. Травма головы . . . . .	235
10.6. Нарушения белкового синтеза . . . . .	236
10.6.1. Механизмы нарушенного белкового синтеза . . . . .	236
10.7. Роль нарушений белкового синтеза в развитии повреждения . . . . .	239
10.7.1. Глобальная ишемия головного мозга . . . . .	239
10.7.2. Фокальная ишемия . . . . .	240
10.7.3. Эпилептические приступы . . . . .	242
10.7.4. Травма головы . . . . .	243
10.8. Терапевтические значения . . . . .	244
Литература . . . . .	246
<b>11. Неправильное упаковывание белков . . . . .</b>	<b>250</b>
Резюме . . . . .	250
11.1. Введение . . . . .	250
11.2. Распространение болезни посредством репликации неправильного упаковывания прионных белков . . . . .	252
11.3. Биология прионов . . . . .	253
11.4. Патогенез прионовых заболеваний . . . . .	256
11.5. Нейронное таргетирование . . . . .	257
11.6. Апоптоз нейронов при прионных болезнях . . . . .	258
11.7. Стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР) и апоптоз при прионных болезнях . . . . .	259
11.8. Заключительные комментарии . . . . .	261
Литература . . . . .	263
<b>12. Ингибирование роста аксонов . . . . .</b>	<b>268</b>
12.1. Введение . . . . .	268
12.2. Свойства нейронов ЦНС . . . . .	269
12.2.1. Выживаемость поврежденных нейронов . . . . .	269
12.2.2. Потеря регенерационной способности в процессе развития . . . . .	269
12.2.3. Различия потенциала роста . . . . .	271
12.2.4. Временная экспрессия молекул, связанных с ростом . . . . .	271
12.2.5. Кондиционное повреждение . . . . .	272
12.3. Внешние факторы: ЦНС как среда, препятствующая росту . . . . .	273
12.3.1. Клеточные компоненты ингибирования . . . . .	273
12.3.1.1. Глиальный рубец . . . . .	273
12.3.1.2. Олигодендроциты и миелин (Валлеровское перерождение) . . . . .	274
12.3.1.3. Вторичное повреждение: воспаление, клеточно-опосредованный иммунитет и потеря глиальных клеток . . . . .	275
12.3.1.4. Генетическая регуляция клеточных ответов на повреждение ЦНС . . . . .	276
12.3.2. Молекулярные компоненты ингибирования . . . . .	277
12.3.2.1. Ингибиторы роста аксонов в глиальном рубце . . . . .	277
Хондроитинсульфатпротеогликаны (ХСПГ) . . . . .	277
Тенасцины . . . . .	279
Семафорины . . . . .	280
12.3.2.2. Миелин-ассоциированные ингибиторы роста . . . . .	280

Миелин-ассоциированный гликопротеин (МАГ) . . . . .	281
Nogo . . . . .	282
Олигодендроцит-миелиновый гликопротеин (OMgp) . . . . .	283
12.3.3. Пеедача сигналов, ингибирующих рост аксонов . . . . .	284
12.3.3.1. Рецепторы для миелин-ассоциированных ингибиторов . . . . .	284
12.3.3.2. Сигнальные пути миелин-ассоциированных ингибиторов . . . . .	285
Rho-ГТФазы и Rho-киназы . . . . .	285
Циклический аденозинмонофосфат (цАМФ)/протеинкиназа А (РКА) . . . . .	287
12.4. Экспериментальные стратегии преодоления ингибирования роста . . . . .	287
12.5. Заключение . . . . .	290
Литература . . . . .	290
<b>13. Нейрогенез . . . . .</b>	<b>307</b>
13.1. Введение . . . . .	307
13.2. Нейрональные стволовые клетки и клетки-предшественники в зрелом головном мозге . . . . .	309
13.2.1. Нейрональные стволовые клетки в зрелом головном мозге: <i>in vitro</i> . . . . .	309
13.2.2. Нейрональные стволовые клетки в зрелом головном мозге: <i>in vivo</i> . . . . .	311
13.3. Созревание и миграция взрослых вновь образованных нейронов в зрелом головном мозге . . . . .	314
13.4. Нейрогенез в зрелом головном мозге – возрастная зависимость, жизнеспособность и генетические детерминанты . . . . .	316
13.4.1. Нейрогенез у старых животных . . . . .	316
13.4.2. Долговременная жизнеспособность вновь образованных нейронов в СВЗ и гиппокампе зрелых особей. . . . .	317
13.4.3. Генетическое влияние на нейрогенез в зрелом гиппокампе . . . . .	318
13.5. Регуляция нейрогенеза у зрелых особей . . . . .	318
13.5.1. Обучение . . . . .	319
13.5.2. Обогащение среды . . . . .	319
13.5.3. Физическая активность . . . . .	320
13.5.4. Стресс и депрессия . . . . .	321
13.5.5. Эпилепсия. . . . .	323
13.5.6. Ишемия и кортикальная травма. . . . .	324
13.6. Возможная функциональная роль нейрогенеза в зрелом головном мозге . . . . .	325
13.7. Терапевтические стратегии для замещения нервных клеток . . . . .	327
13.7.1. Эндогенный нейрогенез . . . . .	327
13.7.2. Трансплантация стволовых или клеток-предшественников в поврежденный мозг . . . . .	327
Благодарность . . . . .	329
Литература . . . . .	329
<b>14. Эксайтотоксичность. . . . .</b>	<b>342</b>
Резюме . . . . .	342
14.1. Введение . . . . .	343
14.2. Поиск клинически переносимых антагонистов NMDA-рецепторов . . . . .	345
14.3. Эксайтотоксичность . . . . .	346
14.3.1. Определение и клиническая значимость . . . . .	346
14.3.2. Связь между инсультом, сосудистой деменцией и эксайтотоксическим повреждением . . . . .	348
14.3.2.1. Возможная связь между эксайтотоксическим повреждением и болезнью Альцгеймера . . . . .	348

14.3.3. Патофизиология эксайтотоксичности: роль NMDA-рецептора . . . . .	349
14.3.3.1. Значимость скорости выхода из блокады канала . . . . .	351
14.4. Мемантин . . . . .	353
14.4.1. Предпосылки и фармакология: неконкурентный блокатор открытых каналов . . . . .	353
14.4.2. Зависимость от потенциала, частичное попадание в ловушку и другие возможные эффекты мемантина . . . . .	357
14.4.3. Нейропротективная эффективность . . . . .	358
14.5. НитроМемантины . . . . .	360
14.6. Краткие выводы . . . . .	361
Благодарность . . . . .	363
Приложение . . . . .	363
Литература . . . . .	364

### Часть III. МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

<b>15. Травма спинного мозга . . . . .</b>	<b>369</b>
Резюме . . . . .	369
15.1. Эпидемиология . . . . .	370
15.2. Клинические проявления . . . . .	370
15.2.1. Острая фаза . . . . .	370
15.2.2. Дисфункция вегетативной нервной системы . . . . .	371
15.2.3. Динамика клинической картины . . . . .	372
15.3. Принципы терапии . . . . .	374
15.3.1. Общие принципы . . . . .	374
15.3.2. Переход от неотложной помощи к реабилитации . . . . .	375
15.3.3. Основные аспекты двигательной реабилитации: активность нейронов изолированного спинного мозга . . . . .	376
15.4. Современные подходы к двигательной реабилитации . . . . .	377
15.4.1. Пластичность спинальных рефлексов . . . . .	377
15.4.2. Обусловленная активностью пластичность – реабилитационные подходы . . . . .	378
15.4.3. Специфичная заданию пластичность . . . . .	378
15.4.4. Эффекты двигательной тренировки при повреждении спинного мозга . . . . .	379
15.5. Поиск способов надежной оценки клинического состояния . . . . .	381
15.5.1. Объективная симптоматика и функциональное состояние . . . . .	381
15.5.2. Адекватная оценка функционального состояния как основа для новых терапевтических вмешательств . . . . .	382
15.6. Заключение . . . . .	384
Благодарность . . . . .	385
Литература . . . . .	385
<b>16. Нейродегенерация . . . . .</b>	<b>390</b>
16.1. Что такое нейропротекция? . . . . .	390
16.2. Оценка исходов в клинических исследованиях . . . . .	391
16.3. Применение нейропротекции при некоторых заболеваниях . . . . .	393
16.3.1. Болезнь Вильсона . . . . .	393
16.3.2. Болезнь Паркинсона . . . . .	394
16.3.2.1. Исследование DATATOR . . . . .	394
16.3.2.2. Агонисты дофамина . . . . .	394
16.3.2.3. Антиэксайтотоксичное лечение . . . . .	395



16.3.2.4. Нейротрофины . . . . .	396
16.3.2.5. Ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы . . . . .	396
16.3.2.6. Клеточная трансплантация . . . . .	396
16.3.2.7. Глубинная стимуляция головного мозга . . . . .	397
16.3.2.8. Коэнзим Q <sub>10</sub> . . . . .	398
16.3.3 Мультисистемная атрофия и прогрессирующий надъядерный паралич . . . . .	398
16.3.4. Болезнь Альцгеймера . . . . .	398
16.3.4.1. Симптоматическое лечение . . . . .	399
16.3.4.2. Антиоксиданты . . . . .	400
16.3.4.3. Противовоспалительные препараты . . . . .	400
16.3.4.4. Эстроген-заместительная терапия . . . . .	400
16.3.4.5. Антагонисты NMDA-рецептора. . . . .	401
16.3.4.6. Экспериментальные методы лечения . . . . .	401
16.3.4.7. Иммунизация . . . . .	401
16.3.4.8. Холестерин-снижающая терапия . . . . .	403
16.3.5. Болезнь Гентингтона . . . . .	405
16.4. Почему так много клинических испытаний потерпели неудачу? Что нам необходимо? . . . . .	406
Литература . . . . .	407
<b>17. Перспективы для нейропротективных методов лечения в фундаментальных научных исследованиях и применение в клинической практике . . . . .</b>	<b>414</b>
Литература . . . . .	418
<b>Авторы . . . . .</b>	<b>419</b>

# Предисловие

На протяжении последних десятилетий как научное сообщество, так и общественность в целом получили колоссальный объем новой информации о клеточных, молекулярных и физиологических механизмах клеточной пролиферации, дифференциации, созревания и дегенерации клеток. Было создано множество животных моделей различных неврологических заболеваний, применяемых для изучения механизмов гибели клеток и выявления потенциальных мишеней для проведения нейропротективной и нейрорепаративной терапии. Окончательная расшифровка генома человека и многих других видов живых существ явилась основанием для роста надежд на окончательную победу над многими фатальными заболеваниями человека. Открытия генетических и молекулярных механизмов были воспроизведены на животных и новые экспериментальные методы, продемонстрировавшие положительный эффект, были применены при лечении заболевших, а новые терапевтические разработки быстро внедрялись в клиническую практику, при этом процесс их распространения нередко ускорялся значительными ожиданиями общественности и менеджментом производителей лекарственных препаратов.

В то же время многие клинические исследования, инициированные вследствие положительных результатов, проведенных на животных экспериментах с применением новых лекарственных препаратов и лечебных технологий, не смогли подтвердить их положительный эффект у человека. Более того, некоторые исследования были досрочно прекращены вследствие возникновения побочных эффектов и ухудшения состояния пациентов.

Из огромного количества лекарственных субстанций, протестированных в основных экспериментальных моделях, лишь некоторые проверены в клинических условиях. Среди них – нейротрофические факторы, мембраностабилизирующие агенты, антиоксиданты, антитоксины, антибиотики, блокаторы кальциевых каналов и глутаматных рецепторов, а также ингибиторы каспаз (Kermer and Bähr, 2002). Однако ни одно из средств не привело к значительным успехам лечения неврологических и психиатрических заболеваний. В связи с этим возникает вопрос: почему хорошо зарекомендовавшие себя в условиях эксперимента препараты не смогли подтвердить

своей эффективности в клинических условиях? Понять это непросто, и однозначного ответа на такой вопрос не существует. Можно только отметить основные положения, которые будут расшифрованы в различных главах настоящего издания.

Во-первых, в условиях моделей на животных начало развития патологического состояния, время начала лечения и развития побочных эффектов значительно отличаются от реальных условий у пациента. Так, препарат может продемонстрировать значительный эффект при паренхиматозном или вентрикулярном введении через несколько минут непосредственно после развития у животного ишемии, однако его системное введение больному через несколько часов после развития инсульта не сможет обеспечить своевременную должную концентрацию препарата в области поражения или в клетках ЦНС.

Во-вторых, как было отмечено ранее, для создания экспериментальных моделей в основном используются молодые здоровые грызуны. Напротив, пациенты с неврологическими заболеваниями, например инсультом, характеризуются пожилым возрастом, коморбидностью, что способно вызвать возникновение побочных эффектов вследствие взаимодействия нового препарата с уже принимаемыми лекарственными средствами, тогда как оснований ожидать развития побочных эффектов у молодых здоровых животных нет. Наконец, время развития, течение и исходы каждого конкретного инсульта могут значительно различаться и, в зависимости от используемых в исследовании критериев, потенциально эффективный препарат может быть введен больному с тяжелым некурабельным поражением, критерии, используемые в моделях у животных для оценки эффективности лечения, могут оказаться неприемлемыми для оценки состояния пациентов (например, гистологическое изучение степени выживаемости клеток или сохранности тканей в животных моделях, не может быть использовано при исследованиях у людей).

В результате этого сама по себе концепция создания или внедрения нового лекарственного препарата на основании результатов изучения на животной модели может быть подвергнута критике, в связи с чем многие крупные фармацевтические компании прекратили или значительно ограничили усилия по разработке новых «нейропротективных» препаратов в своих исследовательских подразделениях.

Таким образом, кажется своевременным представить всесторонний обзор наших последних представлений в области возможностей и ограничений доступных модельных систем, в высокой степени соответствующих неврологическим заболеваниям человека, в частности инсульту, травме, нейродегенеративным и воспалительным поражениям ЦНС. Далее представляется необходимым более внимательно рассмотреть такие некоторые общие проблемы, как перенос результатов экспериментальных исследований, проведенных на молодых и здоровых животных, непосредственно в клинические условия, что позволит извлечь уроки из допущенных ошибок при дальнейшем планировании новых направлений нейропротективной и нейроресторативной терапии.

Наконец, для создания новых направлений и будущих концепций терапии необходима оценка результатов фундаментальных и прикладных исследований. С этой целью ведущие эксперты в различных научных областях из разных стран внесли свой вклад в создание настоящего издания (Нейропротекция. Модели, механизмы, терапия).

Мы выражаем надежду на то, что эта книга послужит читателю руководством для лучшего понимания сложных данных, полученных в результате экспериментальных исследований и трудностей перенесения экспериментальных данных в клинику, с одной стороны, и, с другой, представит подробный обзор и основу для обсуждения и дальнейших работ в области фундаментальных исследований, нейронаук и других областей.

*Матиас Бэр  
Геттинген  
январь 2004*

# Благодарность

Мы представляем новую книгу, решающую целый ряд задач, создать которую оказалось по силам только слаженной команде. Мне хотелось бы поблагодарить всех принимавших участие в работе над данной книгой, в особенности моих секретарей Heidi Gottfried и Barbara Nordman, Andreas Sedtko из Willey-VCH.

В данной книге в одном томе изложены сведения об экспериментальных моделях, молекулярных механизмах и клинических исследованиях. Здесь всемирно признанные исследователи и клиницисты представили разнообразные сведения о применении нейропротективных лечебных стратегий всех важнейших заболеваний нервной системы.

Следуя за обзором нейродегенеративных, травматических и ишемических поражений нервной системы, рассматриваются *in vivo* и *in vitro* модельные системы, клеточные и молекулярные механизмы заболеваний. Особо полезен анализ клинических исследований, объясняющий их успехи и неудачи, позволяющий получить целостную картину и вселяющий надежду на разработку в будущем эффективных терапевтических стратегий.

# НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ – ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКИЙ ОБЗОР И МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ

---

## 1. Инсульт

*Андреас Мейсел, Константин Прасс,  
Тило Вольф, Ульрих Дирнагл*

### Резюме

Современное понимание патофизиологии инсульта основано, главным образом, на экспериментальных моделях. Среди них модели *in vitro*, в основном с использованием культур клеток головного мозга, позволяют исследовать патофизиологию инсульта на молекулярном уровне, тогда как экспериментальные модели у животных (в основном мышей и крыс) используются для оценки эффективности медицинского вмешательства. Существует весьма сложная последовательность событий, способных привести к ишемическому повреждению головного мозга, характеризующаяся четко определенным пространственно-временным паттерном. Избыточная эксайтотоксичность ведет к ранней некротической гибели клеток в области, которая станет ядром инфаркта, тогда как повреждение тканей в окружающей области, называемой полутенью, развивается на протяжении более длительного периода времени. Механизмы эксайтотоксичности и воспаления менее губительны, им присущи характерные признаки апоптоза. После такой массивной атаки клетки головного мозга включают эндогенные защитные программы. Они были изучены в экспериментах с переносимостью индуцированной ишемии (т.е. ишемическим прекодиционированием). Важно, что ишемия головного мозга оказывает влияние не только на головной мозг, но и на другие системы организма. Например, инсульт вызывает значительную иммуносупрессию вследствие избыточной активации симпатической нервной системы. Вследствие

этого развиваются тяжелые бактериальные инфекции, в частности, воспаление легких. Сложные сигнальные каскады определяют не только выживаемость клеток головного мозга и тяжесть неврологического дефицита, но и летальность вследствие инсульта, обусловленную экстрацеребральными осложнениями. Их способность управлять не только формированием зоны потенциального инфаркта, но и иммунной системой, делает их перспективной мишенью для терапевтического вмешательства и разработки нейропротективных препаратов.

## 1.1. Введение

В США более 600 000 человек в год переносят инсульт, а среди экстренно госпитализированных пациентов с неврологическими заболеваниями пациенты с инсультом составляют наибольшую часть – около 50%. В настоящее время в США проживают около 4 млн человек, перенесших инсульт [1]. Смертность от инсульта составляет 25%, что делает ее одной из трех основных причин летальности в промышленно развитых странах. Вследствие высокого уровня возникающей стойкой нетрудоспособности инсульт является тяжелым бременем не только для пациентов и их семей, но и для национальной экономики: подсчитано, что в США ежегодные расходы, связанные с инсультом, составляют 30–40 млрд долларов [2, 3]. В Великобритании расходы на одного пациента составляют до £ 30 000 за 5 лет [4].

Термином «инсульт» характеризуется множество различных состояний. Около 85% инсультов вызваны ишемией головного мозга, обусловленной закупоркой сосуда. По сравнению с этим первичное кровоизлияние головного мозга развивается относительно редко – в 15%. До 75% ишемических инсультов обусловлены эмболиями артериального или кардиогенного происхождения, тогда как 20% инсультов вызваны закупоркой мелких артерий, т.е. гиалинозом или тромбозом *in situ*. Гемодинамически обусловленная ишемия, вызванная сужением артерий головного мозга, является причиной менее 5% ишемических инсультов [5, 6].

Потенциальный риск ишемического инсульта в определенной степени обусловлен рядом социальных и поведенческих факторов (питание, курение табака, стресс) и таких длительно воздействующих факторов, как повышенное кровяное давление, диабет, нарушение метаболизма холестерина и липидов и ожирение. Атеросклероз является ведущим фактором развития не только ишемического инсульта, но и ишемической болезни сердца и поражения периферических артерий. Более того, тщательное изучение имеющихся у больных генетических предпосылок развития инсульта позволило выявить семейные формы инсульта, такие как CADASIL (аутосомно-доминантная церебральная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией), характеризующаяся повторными эпизодами субкортикальной ишемии. Данное заболевание вызывается мутацией в *notch3*-гене на 19 хромосоме [7, 8]. MELAS (митохондриальная

энцефалопатия с лактацидозом и инсультоподобными эпизодами) – другая редкая семейная форма инсульта, проявляющаяся мигренью, генерализованными эпилептическими припадками и рецидивирующими кортикальными инфарктами. Это состояние обусловлено различными мутациями митохондриального генома, объясняющими его наследование по материнской линии. Тяжесть фенотипических проявлений, главным образом, зависит от локуса мутации и выраженности и распространенности мутации [9]. Тем не менее семейные и близнецовые исследования позволяют предположить, что генетические факторы, вероятно, лежат в основе распространенных типов ишемического инсульта, а не только редких, четко детерминированных форм семейного инсульта [10–13].

Считается, что локус на хромосоме 5q12, описанный в исландской популяции, значительно увеличивает предрасположенность к инсульту [14]. Ответственным за это является идентифицированный ген, кодирующий фосфодиэстеразу 4D (PDE4D). Обуславливающие повышенный риск полиморфизмы расположены в регуляторной части гена. Это указывает на нарушение регуляции кодирования цАМФ разрушающего белка [15]. Фосфодиэстераза 4D принадлежит к группе белков, являющихся мишенями для препаратов, используемых при лечении бронхиальной астмы, эректильной дисфункции и воспалительных процессов.

Клиническая симптоматика очаговой ишемии головного мозга определяется характерной зоной кровоснабжения пораженного сосуда. В таблице 1 представлена частота поражения [16] и типичные клинические синдромы поражения основных артерий головного мозга. Смертность от инсульта составляет 20–30%. Неблагоприятными прогностическими признаками являются преклонный возраст больного, раннее развитие коматозного состояния, асимметрия зрачков, ишемическая болезнь сердца и сердечная недостаточность. Гипертермия и инфекционные осложнения (в частности, воспаление легких) ухудшают прогноз, особенно в дебюте заболевания (см. ниже). Среди выживших пациентов у трети в течение недели наступает улучшение состояния, у 40% степень инвалидизации остается прежней, а у 20% в течение первой недели наступает ухудшение состояния [17].

Большая часть наших представлений о патофизиологии инсульта получена из экспериментальных исследований. Экспериментальные модели на животных придерживаются двух главных парадигм. Первая представляет собой модель фокальной ишемии головного мозга в качестве модели ишемического инсульта. Вторая является моделью глобальной ишемии головного мозга вследствие остановки кровообращения. По очевидным причинам мы сосредоточимся, главным образом, на исследованиях фокальной ишемии головного мозга. Большая часть экспериментальных исследований проводилась на крысах и мышах, хотя использовались и некоторые приматы. У грызунов ишемия в основном вызывается внутрисосудистой окклюзией средней мозговой артерии (СМА), с использованием хирургической мононити, превышающей критический диаметр сосуда. В зависимости от длительности окклюзии, мы различаем модели долговременной и кратковременной ишемии. Последние



**Таблица 1.1.** Синдромы очагового инсульта**Передняя система кровообращения**

Средняя мозговая артерия (СМА)	(≈60%)	Гемипарез, преимущественно в руке, гемигипестезия, гемианопия, дисфазия или игнорирование
Передняя мозговая артерия (ПМА)	(4%)	Гемипарез, преимущественно в ноге, недержание мочи, апраксия
Передняя хориоидальная артерия (ветвь внутренней сонной артерии) (ПХА)	(8%)	Гемипарез, гемигипестезия, гемианопсия

**Задняя система кровообращения**

ПА/ОА	(10%)	Головокружение, диплопия, двусторонняя гипестезия и парез, альтернирующие синдромы, амавроз, атаксия, головная боль, кома
Мозжечок (задняя нижняя мозжечковая артерия/передняя нижняя мозжечковая артерия) (ЗНМА/ПНМА)	(7%)	Головная боль, атаксия, головокружение, паралич взора, слабость мимической мускулатуры, глухота
Задняя мозговая артерия (ЗМА)	(9%)	Гемианопия, дислексия, зрительная агнозия

также применяются в качестве модели спонтанной реперфузии или для изучения состояния после успешной тромболитической терапии с применением рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rtPA) у людей.

В моделях ишемии головного мозга перфузия нарушается вследствие некоторых манипуляций. Так как сутью ишемического инсульта является окклюзия сосуда, неудивительно, что в этих моделях можно предсказать достаточно точно конечный объем инфаркта, исходя из уровня снижения локального кровотока головного мозга (rCBF). Таким образом, если rCBF снижается до менее чем 25% от нормального, вероятность инфаркта в данном объеме ткани головного мозга составляет более 95%. В отличие от этого вероятность развития инфаркта составляет менее 5%, в том случае, если rCBF не снижается менее 50% от нормального. Эти параметры были установлены в исследованиях у людей с использованием ПЭТ и МРТ [18], они соответствуют экспериментальным данным, полученным на животных моделях [19]. Таким образом, изначальное снижение rCBF определяет объем ожидаемого инфаркта. Это, однако, справедливо в случае отсутствия спонтанной или терапевтической реперфузии.

Сейчас мы рассматриваем ишемический инфаркт как следствие сложных и длительных процессов, а не просто как следствие снижения локальной

перфузии. Вследствие высокой потребности ткани головного мозга в кислороде и глюкозе нарушение перфузии ведет к истощению субстратов в течение нескольких минут, при этом имеет место накопление токсичных метаболитов. Развивающееся вследствие этих процессов снижение продукции энергии клетками ведет к нарушению имеющихся ионных градиентов и снижению мембранного потенциала. Нейроны и клетки глии деполяризуются. В зависимости от степени и продолжительности дефицита энергии клетки подвергаются не только функциональному, но и структурному повреждению. Весьма сложная последовательность событий в области ишемии следует четко определенному стереотипному пространственно-временному паттерну, который ниже будет обсуждаться более подробно. Ключевой для понимания этих механизмов является концепция ишемической **полутени (пенумбра)**. Каскад ишемического поражения начинается с **эксайтотоксичности**, образования реактивных **свободных кислородных радикалов**, нарастания **ацидоза ткани** и развития **периинфарктной деполяризации**. За этим следуют стадии **воспаления** и программированной клеточной смерти (**апоптоз**). Это связано с **повреждением ДНК**, которое, в свою очередь, запускает **программы восстановления ДНК**. Хотя процесс все еще не полностью понятен, мы знаем, что процессы ремоделирования хроматина, т.е. **эпигенетические механизмы**, и активация факторов транскрипции, включают сложные **генные программы**. Эти изменения инициируют экспрессию разрушающих белков, вовлеченных в процессы воспаления и апоптоза, также как и систему защитных генов, способствующих репарации области ишемического повреждения. Именно активация этих защитных генов обеспечивает **ишемическую толерантность**. Огромный интерес вызывают недавно открытые защитные механизмы **эндогенного и экзогенного замещения клеток**. Кроме этих аутохтонных механизмов, присущих ткани головного мозга, на уровне целостного организма включаются и другие механизмы, имеющие большое клиническое значение. Например, феномен **обусловленной инсультом иммунодепрессии** может помочь понять, почему пациенты с инсультом обладают высоким риском развития тяжелых бактериальных инфекций. Нейропротективная терапия должна быть основана на понимании этих механизмов.

## 1.2. Концепция полутени

В ишемизированном головном мозге обычно различают две области – ядро инфаркта и окружающую зону, известную как «ишемическая полутень» (пенумбра) [20], которая представляет собой область с нарушенными перфузией и метаболизмом, окружающую подвергшееся необратимому повреждению ядро. Ядро и пенумбра характеризуются двумя различными видами клеточной гибели: некрозом и апоптозом (который также называется

«программированная клеточная смерть» или «отложенная нейронная клеточная смерть»). Значительное снижение перфузии в области ядра вызывает нарушение метаболических процессов, продукции энергии и ионного гомеостаза, что приводит к разрушению клеток в течение нескольких минут. Таким образом, в ядре преобладает острый некроз клеток и тканей. В зоне пенумбры коллатеральными сосудами поддерживается некоторый остаточный кровоток, предотвращающий немедленную структурную дезинтеграцию клеток, но недостаточный для того, чтобы поддерживать нормальный функциональный метаболизм. Тем не менее с течением времени изменения клеточного гомеостаза вызывают гибель все большего количества клеток, и объем инфаркта увеличивается. Зону пенумбры, таким образом, следует рассматривать как ткань, подверженную риску развития инфаркта. В этой области важную роль играют апоптоз и воспалительные сигнальные каскады. До 50% ее начального объема могут подвергнуться инфаркту. Механизмы, ведущие к отсроченной клеточной смерти в зоне пенумбры, являются предметом интенсивных исследований, так как их понимание обеспечивают мишени для специфичной нейропротективной терапии в ишемизированных областях головного мозга, сохраняющих жизнеспособность [19, 21].

### 1.3. Эксайтотоксичность

Деполаризация нейронов и клеток глии вследствие локального дефицита энергии вызывает активацию потенциал-зависимых кальциевых каналов и выделение во внеклеточное пространство возбуждающих аминокислот. В частности, глутамат, который в условиях нормальной продукции энергии был бы незамедлительно поглощен пресинаптическим нейроном или астроцитами, теперь в большом количестве накапливается во внеклеточном пространстве. Вследствие активации глутаматных NMDA- и AMPA-рецепторов повышается внутриклеточное содержание  $Ca^{2+}$ . Более того, метаболитные глутаматные рецепторы активируются посредством индукции фосфолипазы C (PLC) и трифосфата инозитола ( $IP_3$ ), вследствие чего кальций мобилизуется из внутриклеточных хранилищ.

Кроме того, избыточная активация AMPA-рецепторов вызывает увеличение концентрации натрия и хлора. Следствием этого является тяжелое нарушение ионного гомеостаза, сопровождающееся пассивным притоком воды и отеком клеток. В конечном итоге, указанные выраженные изменения объема клеток становятся причиной их осмотического лизиса. Такой литический вид клеточной смерти, также называемый некрозом, наблюдается, в основном, в ядерной зоне инфаркта. Клетки, избежавшие этой самой тяжелой формы дезинтеграции, отсутствуют в ядре инфаркта, однако обнаруживаются в зоне пенумбры, где экссайтотоксичность способна инициировать молекулярные события, ведущие к апоптозу и воспалению [21, 22].

## 1.4. Свободные кислородные радикалы

Вследствие ишемии и, в частности, реперфузии, вырабатываются реактивные кислородные свободные радикалы – супероксид, перекись водорода и гидроксильные радикалы. Оксид азота образуется посредством активации кальций-кальмодулин-зависимой синтазы оксида азота (NOS); он вступает в реакцию с супероксидными радикалами и таким образом образует высокореактивный пероксинитрит. Далее источниками свободных радикалов кислорода в пораженной ткани головного мозга являются продукты распада аденозинфосфатов, способствующих образованию радикалов посредством ксантиноксидазы и катализируемой железом реакции Хабера–Вейса. Многие различные радикалы, образующиеся вследствие этих процессов, могут вступать в реакцию фактически с любыми клеточными компонентами (углеводами, аминокислотами, ДНК, фосфолипидами), повреждая их. Перекисное окисление липидов мембран высвобождает последующие радикалы, и далее – глутамат. Свободные кислородные радикалы имеют еще большее значение при поступлении кислорода в пораженную ткань после эффективной реперфузии, или в зоне пенумбры, куда поступление кислорода полностью не прекратилось [21, 22].

Гипоксия сама по себе, также как и повышенная внутриклеточная концентрация ионов кальция и свободных радикалов, нарушает функционирование митохондрий нейронов. Вследствие этого в митохондриальной мембране может образовываться так называемая временная митохондриальная пора проницаемости (МРТ). Помимо нарушенной синтеза АТФ, ведущего к снижению митохондриального потенциала, МРТ также ведет к набуханию митохондрий, выбросу свободных радикалов кислорода и выделению проапоптотических молекул. Таким образом поддерживается патологический цикл дальнейшей дезинтеграции [21, 23]. Этот патологический цикл частично уравнивается антиоксидантными ферментами, такими как марганцевая супероксиддисмутаза (Mn-SOD) и цитозольные формы медь-цинковой супероксиддисмутазы (CuZn-SOD). Указанные ферменты могут предотвращать разрушение митохондриальной мембраны, препятствуя, таким образом, выделению цитохрома *c*, способного индуцировать апоптоз [24].

## 1.5. Тканевой ацидоз

В контексте патофизиологии инсульта протонный баланс тесно связан с метаболизмом глюкозы. В условиях ограничения поставки кислорода, анаэробный гликолиз – единственный возможный источник производства АТФ приводит к тканевому ацидозу. Длительное время считалось, что этот ацидоз является одним из основных повреждающих механизмов при ишемическом инсульте. Эта так называемая «гипотеза лактацидоза» часто приводится в качестве

В книге изложены сведения об экспериментальных моделях, молекулярных механизмах и клинических исследованиях. Всемирно признанные исследователи и клиницисты представили разнообразную информацию о применении нейропротективных лечебных стратегий всех важнейших заболеваний нервной системы.

Следуя за обзором нейродегенеративных, травматических и ишемических поражений нервной системы, рассматриваются *in vivo* и *in vitro* модельные системы, клеточные и молекулярные механизмы заболеваний. Особо полезен анализ клинических исследований: он объясняет их успехи и неудачи, позволяет получить целостную картину и способствует разработке в будущем эффективных терапевтических стратегий.



**Матиас Бэр** в 1985 г. получил степень доктор медицины в Медицинской школе Университета Тюбингена, в отделении нейропатологии. Затем начал изучение неврологии в Университете Дюссельдорфа, после чего стажировался в Институте Макса Планка в отделении нейробиологии развития в 1987–1989 гг. В 1989 г. начал другую стажировку – в Университете Вашингтона (Сан-Луис), в отделении анатомии и нейробиологии. С 1989 по 1993 г. возглавляет исследовательскую группу в Институте Макса Планка в отделении нейробиологии развития в Тюбингене, параллельно заканчивая обучение по курсу неврологии на кафедре неврологии Университета Тюбингена.

В 1993 г. Матиас Бэр получил сертификат преподавателя-невролога и начал работу на кафедре неврологии. В 1996 г. стал адъюнкт-профессором этой же кафедры и принял предложение возглавить кафедру клинической и экспериментальной неврологии. С 2001 г. Матиас Бэр возглавляет кафедру неврологии в Медицинской школе Университета Геттингена.