

ОЧКОЛЯС В. Н.¹, СОКУРЕНКО Г. Ю.²,
СКОРОМЕЦ А. А.¹, ДАМБИНОВА С. А.¹

Реконструктивные операции на магистральных сосудах шеи как модель изучения особенностей реакции NMDA-рецепторов глутамата на изменение мозгового кровотока

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: ovn@ihb.spb.ru

Реферат

Обследованы 92 больных с гемодинамически значимыми стенозами внутренней сонной артерии. Всем пациентам проведены открытые реконструктивные операции на внутренней сонной артерии, после которых в динамике проводилась оценка уровня аутоантител к NR2A-субъединице NMDA-рецепторов глутамата ретро-спективным иммуноферментным методом. Ухудшение мозгового кровотока на период пережатия внутренней сонной артерии во время операции является фактором, объективно утяжеляющим степень гипоксии в пораженном сосудистом бассейне и усиливающим степень альтерации NMDA-рецепторов глутамата. Выраженность альтерации NMDA-рецепторов глутамата зависит от времени пережатия внутренней сонной артерии и потенциала структурно-функциональной компенсации мозгового кровотока. Реакция NMDA-рецепторов на углубление имеющейся ишемии развивается быстро, в режиме реального времени.

Ключевые слова: NMDA-рецепторы глутамата, каротидная эндартерэктомия, мозговой кровоток.

Введение

Основным патогенетическим механизмом формирования ишемического очага при критическом снижении мозгового кровотока является феномен эксайтотоксичности: избыточное высвобождение глутамата из окончаний ишемизированных нейронов в синаптическую щель и межклеточное пространство приводит к активации и последующей альтерации ионотропных рецепторов глутамата [2, 6, 18, 20, 31, 33, 34]. Большая роль в реализации эксайтотоксического повреждения нейрона отводится NMDA-(N-methyl-D-aspartic acid) рецепторно-канальным комплексам [4–6, 11].

В физиологических условиях NMDA-рецепторы глутамата имеют конечный временной период своего функционирования. После выработки функционального ресурса происходит деструкция рецепторов, при этом экстрацеллюлярные компоненты составляющих рецептор субъединиц попадают во внеклеточное пространство и, далее, на уровне гематоэнцефалического барьера и желудочковой системы контактируют с иммунной системой, результатом чего является выработка аутоантител (ААТ) к вышеуказанным компонентам [4–11]. Вопросам изучения механизмов контакта белковых компонентов и иммунной системы на уровне гематоэнцефалического барьера посвящено достаточное количество работ. При нормальном функционировании головного мозга основным механизмом транспорта через гематоэнцефалический барьер является микропиноцитоз [19, 21, 25, 27]. В этих условиях в периферической крови

регистрируется уровень ААТ, отражающий наличие фонового обновления глутаматных рецепторов в рамках общих репаративных процессов в организме и являющийся нормой [5–8]. Поддержание плотности рецепторных полей на постсинаптической мембране происходит по механизму латерального смещения (за счет внесинаптических рецепторов) и экзоцитоза [7, 13].

В условиях ишемии проницаемость гематоэнцефалического барьера возрастает за счет раскрытия плотных соединений межэндотелиальных контактов [16, 23–26] и увеличения трансэндотелиального транспорта при повреждении билипидного слоя в базальной мембране [26–28, 35–37].

Следствием активации и последующей альтерации NMDA-рецепторов глутамата в условиях эксайтотоксичности является повышенный вход Ca^{2+} в клетку с последующей стимуляцией протеаз и запуском механизмов некроза и апоптоза нейрона [18, 20, 31]. Нарастание концентрации внутриклеточных ионов Ca^{2+} приводит к активации Ca^{2+} -зависимых ферментов (кальпаина, фосфолипаз, Ca^{2+} -кальмодулинзависимых протеинкиназ), модифицирующих мембранные белки, в том числе глутаматные рецепторы, приводя к распаду их структуры [31, 34]. В этих условиях структурные компоненты NMDA-рецепторов в большем объеме проявляются в ткани мозга в пределах гематоэнцефалического барьера и желудочковой системы, активируя иммунную систему, что влечет увеличение уровня ААТ в периферической крови [5–7, 9–13].

Критическое снижение мозгового кровотока при острой церебральной ишемии вследствие стеноза или окклюзии брахиоцефальных артерий при отсутствии структурных и функциональных механизмов компенсации мозгового кровотока приводит к функциональной и аноксической деполаризации нейронов в пораженном сосудистом бассейне. Этот феномен лежит в основе концепции ишемической полутени [30, 34]. Составляющий зону ишемической полутени клеточный пул, утративший электрогенные свойства, но обладающий достаточным энергетическим запасом для предотвращения аноксической деполаризации, является структурно-функциональной базой и мишенью, способной адекватно воспринять потенциальное восстановление мозгового кровотока.

Большинство исследований при изучении нормальной и патологической физиологии NMDA-рецепторов глутамата проводятся на экспериментальных моделях, моделях *in vitro*, методом компьютерного моделирования [13, 20].

Реконструктивные открытые операции на магистральных артериях шеи, одним из объективно необходимых этапов которых является временное пережатие сосуда со снижением кровотока по нему для устранения причины стеноза или окклюзии, создают естественную модель *in vivo*, в рамках которой неизбежно происходит углубление имеющейся ишемии в пораженном сосудистом бассейне [1, 22]. В этих условиях появляется практическая возможность изучения и объективной оценки степени повреждения NMDA-глутаматных рецепторов, компенсаторного потенциала и темпа их восстановления в бассейне оперированного сосуда по уровню ААТ к NR2A-субъединице NMDA-рецепторов глутамата (NR2A) [5, 8–10, 12].

Цель исследования

Изучение особенностей альтерации и восстановления NMDA-рецепторов глутамата при открытых реконструктивных операциях на внутренней сонной артерии (ВСА).

Материал и методы исследования

Клинико-статистическая характеристика исследуемой группы больных. Обследованы 92 больных с гемодинамически значимыми стенозами ВСА, проходившими лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии городской больницы № 26 Санкт-

Петербурга. Мужчин было 70 (76,1 %), женщин — 22 (23,9 %). Соотношение мужчин и женщин составило 3,1:1. Возраст больных варьировал от 36 до 74 лет, средний возраст — 58,5±8,1 года.

Все больные общей серии наблюдений перенесли ишемический инсульт. Распределение больных по типу инсульта приведено в табл. 1. Использована классификация OCSF (Oxfordshire Community Stroke Project classification) [2, 14]. Больные находились в подострой стадии инсульта или стадии реконвалесценции, без клинических признаков отека мозга, без расстройств сознания, с преобладанием в клинической картине очаговой неврологической симптоматики [6].

В общей серии наблюдений наиболее частым вариантом структурной патологии был гемодинамически значимый стеноз ВСА — у 88 (95,6 %) больных. У 4 (4,4 %) больных было выявлено сочетание стеноза с патологической извитостью ВСА.

При анализе особенностей индивидуального строения сосудов у 55 (59,8 %) больных регистрировались различные варианты аномалии переднего и заднего отделов Виллизиева круга, а также их сочетания. Анатомические варианты строения Виллизиева круга в общей серии наблюдений приведены в табл. 2.

При анализе показателей цереброваскулярной реактивности (ЦВР) у 57 (62 %) больных было выявлено снижение вазодилататорного резерва в виде низкого КР+СО₂. Из 37 больных с нормальной анатомией Виллизиева круга у 35 (94,6 %) регистрировались нормальные показатели ЦВР.

По уровню структурно-функционального потенциала компенсации мозгового кровотока больные были разделены на 2 группы: 1 — больные с достаточным структурно-функциональным потенциалом компенсации мозгового кровотока (n=35), и 2 — больные с низким структурно-функциональным потенциалом компенсации мозгового кровотока (n=57).

Всем больным выполнены реконструктивные операции на ВСА: 38 больным (41,3 %) была выполнена классическая каротидная эндартерэктомия (КЭАЭ), 50 больным (54,3 %) — эверсионная КЭАЭ [15], 4 больным (4,4 %) — резекция ВСА по поводу стеноза и патологической извитости с реимплантацией в старое устье. Все оперативные вмешательства выполнялись под комбинированным эндотрахеальным наркозом с применением стандартных шейных доступов. Для защиты головного мозга применялась

Распределение больных в общей серии наблюдений (n=92) по типу инсульта [1, 13]

Таблица 1

Тип инсульта	Количество больных	
	абс.	%
Частичный инфаркт в каротидном бассейне	35	43,5
Лакунарный инфаркт в каротидном бассейне	57	56,5
Всего больных	92	100

Структурный потенциал компенсации мозгового кровотока у больных в общей серии наблюдений (анатомические варианты строения Виллизиева круга) [1]

Таблица 2

Вариант строения	Количество больных	
	абс.	%
<i>Аномалии переднего отдела Виллизиева круга</i>		
Аплазия ПСА	5	5,4
Передняя трифуркация ВСА	7	7,6
<i>Аномалии заднего отдела Виллизиева круга</i>		
Аплазия одной ЗСА	19	20,8
Аплазия двух ЗСА	14	15,2
Задняя трифуркация ВСА	6	6,5
Варианты аномалии (разомкнутости) переднего и заднего отделов Виллизиева круга	4	4,3
Замкнутый Виллизиев круг	37	40,2
Всего	92	100

Хронологические характеристики оперативных вмешательств в общей серии наблюдений (n=92)

Таблица 3

Вид оперативного вмешательства	Хронологическая характеристика					
	продолжительность операции, мин			время пережатия ВСА, мин		
	М	σ	m	М	σ	m
Классическая КЭАЭ (n=38) ¹	132,5	12,07	1,96	35,42	4,23	0,69
Эверсионная КЭАЭ (n=50) ²	122,40*	17,71	2,51	33,82	4,48	0,63
Резекция ВСА (n=4) ³	105,0*	12,91	6,45	28,75**	2,50	1,25

^{1,2,3} — обозначения групп сравнения; * — разница достоверна по сравнению с ¹ (p<0,05); ** — разница достоверна по сравнению с ¹ и ² (p<0,05).

управляемая артериальная гипертензия, а также комплексная медикаментозная защита, включавшая внутривенные инфузии гепарина в дозе 2,5–5 тыс. ед., дексаметазона в дозе 8–40 мг, глицерина в дозе 2000 мг на 200 мл физиологического раствора. Хронологические характеристики оперативных вмешательств приведены в табл. 3.

Продолжительность операции эверсионной КЭАЭ были короче по длительности (табл. 3) (p<0,05). Среднее время пережатия ВСА при эверсионной КЭАЭ также было меньше по времени, чем при классической КЭАЭ, однако эта разница была незначима (p>0,05). Продолжительность операции и время пережатия ВСА при операции резекции ВСА были самыми низкими в группах сравнения (p<0,05).

Достоверных различий в группах сравнения по полу, возрасту, стороне поражения, тактике и технике оперативных вмешательств и их результатам не выявлено. Результатом операций во всех рассмотренных случаях было объективно подтвержденное улучшение мозгового кровотока в пораженном сосудистом бассейне, которое коррелировало со стабилизацией и улучшением клинической картины заболевания.

Диагностический комплекс обследования. Больные обследованы в рамках диагностического комплекса, включающего оценку соматического и неврологического статуса (n=92), компьютерную томографию (n=50), магнитно-резонансную томографию с МР-ангиографией (n=42), ультразвуковую доплерографию экстракраниальных артерий и транскраниальную доплерографию (n=92), дуплексное сканирование (n=92), ангиографию брахиоцефальных сосудов (n=92). Оценивалась локализация, размер [23, 32] и классифицировался клинический подтип [2, 14] инфаркта мозга. УЗДГ экстракраниальных артерий и ТКДГ проводились на аппарате «Companion EME Nikolet» (Австрия). При исследовании экстракраниальных артерий использовали датчики 4 и 8 МГц, при ТКДГ — импульсный датчик 2 МГц.

Исследование проводилось по стандартному протоколу с определением линейной скорости кровотока в средней мозговой артерии и расчетных показателей ЦВР [3]. Коэффициенты Кр+СО₂, Кр-СО₂, индекс вазомоторной реактивности сравнивались с возрастным диапазоном нормы этих показателей [3]. ТКДГ

проводили до операции, а также через 2–4 недели после операции. Дуплексное сканирование экстракраниальных артерий проводилось на аппаратах В-К Medical (Дания) и AU-4 Idea (Италия). Церебральная ангиография проводилась на аппарате Multistar фирмы Siemens (Германия).

В качестве оценки степени альтерации NMDA-рецепторов глутамата использован иммуноферментный метод полуколичественного определения уровня ААТ к NR2A, разработанный С. А. Дамбиновой [8–10, 12]. Образцы крови больных отбирали из вены. Сыворотку получали путем центрифугирования (4000g) в течение 5 мин при +4 °С.

Образцы хранили до момента анализа при температуре –70 °С. В качестве антигена для определения уровня ААТ в сыворотке крови использовали синтетические пептиды, соответствующие N-концевой последовательности аминокислот NR2A-субъединицы NMDA-рецепторов глутамата, полученные методом твердофазного синтеза на полуавтоматическом синтезаторе NPS-400 (*Neosystem Laboratory*, Франция) с использованием метил-бутил-гидроацетилового основания и N-терт-бутоксикарбонил/бензиловой методики для первых двух аминокислот. Препаративная очистка пептида осуществлялась методом HPLC на DeltaPac C18 Column (*Waters Chromatography*, Milford, MA, США) в системе «вода/ацетонитрил/0,015 М трифторуксусная кислота». Чистота пептида была определена аналитическим HPLC и варьировала от 90 до 98 %. Последовательности пептида были проверены анализом аминокислот после гидролиза пептида. Иммуноферментный анализ проб сывороток проводили стандартным методом ELISA. Реакцию оценивали спектрофотометрически при фиксированной длине волны 490 нм. Уровень аутоантител выражали в процентах отношения оптической плотности исследуемого образца и оптической плотности образца контрольной группы. Верхний уровень ААТ определен в 110 % [12]. Определение уровня ААТ производилось до операции, через 30 мин после пережатия ВСА, через 3 часа после операции, через 3 и 14 суток (n=92) и через 4 недели после операции (n=23).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием лицензионной программы «Statistica 6.0». Проведена проверка полученных данных на нормальность распределения по критерию Колмогорова–Смирнова. Вычисляли выборочное среднее (M), среднеквадратичное отклонение (σ), стандартную ошибку среднего (m). Для установления достоверности различий использовали критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведен анализ динамики уровней ААТ к NR2A у больных в общей серии наблюдений (n=92) в зависимости от потенциала компенсации мозгового кровотока (табл. 4). Уровень ААТ к NR2A в обеих группах до операции существенно превышал нормальные значения (1-я группа — $147,91 \pm 2,15$ %, 2-я группа — $165,17 \pm 1,84$ %). В 1-й группе больных повышение уровня ААТ к NR2A на 6 % регистрировалось уже

через 30 мин после начала основного этапа операции — пережатия ВСА и последующей КЭАЭ ($p < 0,05$). После восстановления кровотока через 3 часа отмечалось существенное снижение уровня ААТ к NR2A ниже исходного, и в дальнейшем, в течение 2 недель, отмечалось постепенное снижение уровня ААТ к NR2A до близких к нормальным значений ($p < 0,05$). К концу 4-й недели регистрировалось незначительное повышение уровня ААТ до $110,86 \pm 2,49$ % (n=7). Во 2-й группе больных динамика уровня ААТ к NR2A соответствовала таковой в 1-й группе: повышение уровня ААТ к NR2A на 14 % также регистрировалось через 30 мин после начала основного этапа операции ($p < 0,05$). После восстановления кровотока через 3 часа отмечалось снижение уровня ААТ к NR2A, однако к концу 4-й недели (n=16) уровень ААТ к NR2A оставался несколько выше нормальных значений и составлял $118,87 \pm 3,93$ % ($p < 0,05$).

При межгрупповом сравнительном анализе по периодам контроля выявлена разница уровней ААТ к NR2A, при этом уровень ААТ к NR2A был существенно выше во 2-й группе в 1–5-й периоды контроля ($p < 0,05$).

При анализе уровней ААТ к NR2A-субъединицы NMDA-рецепторов глутамата на фоне изменения мозгового кровотока выявлены определенные закономерности. При наличии количественных различий динамика уровней ААТ в группах сравнения носила относительно стереотипный характер. Реакция NMDA-рецепторов глутамата на ухудшение кровотока в пораженном сосудистом бассейне развивалась в режиме реального времени. Повышение уровней ААТ к NR2A регистрировалось в 1-й и 2-й группах больных через 30 мин после начала основного этапа операции — пережатия ВСА и последующей КЭАЭ или резекции ВСА ($p < 0,05$). При восстановлении и объективном улучшении артериального мозгового кровотока в пораженном сосудистом бассейне восстановление NMDA-рецепторов глутамата протекало быстро. Снижение уровня ААТ в группах сравнения прямо коррелировало с позитивным уровнем клинической компенсации заболевания и положительной динамикой данных ТКДГ.

При однотипном характере динамика уровней ААТ к NR2A в обеих группах, в группе больных (n=57) с низким потенциалом структурно-функциональной компенсации мозгового кровотока альтерация NMDA-рецепторов глутамата преобладала. Уровень ААТ к NR2A в этой группе был выше, чем в группе больных с достаточным структурно-функциональным потенциалом компенсации в 1–5-й периоды контроля ($p < 0,05$). Выравнивание этих показателей в группах сравнения регистрировалось только к концу 4-й недели после операции. В общей серии наблюдений объективное улучшение мозгового кровотока в пораженном сосудистом бассейне в динамике после проведенных реконструктивных оперативных вмешательств прямо коррелировало с уменьшением уровня ААТ к NR2A до близких к нормальным значений.

Проведен анализ динамики уровней ААТ к NR2A у больных в общей серии наблюдений (n=92) в за-

Сравнительная динамика уровня ААТ к NR2A-субъединице NMDA-рецепторов глутамата у больных, оперированных по поводу гемодинамически значимых стенозов ВСА, в зависимости от уровня структурно-функционального потенциала компенсации мозгового кровотока, %

Таблица 4

Период контроля	Больные с достаточным потенциалом компенсации мозгового кровотока (n=35)			Больные с низким потенциалом компенсации мозгового кровотока (n=57)			p
	М	σ	m	М	σ	m	
До операции ¹	147,91	12,75	2,15	165,17	13,90	1,84	p<0,05
Через 30 мин после пережатия ВСА ²	157,03*	8,74	1,48	188,01*	24,43	3,23	p<0,05
Через 3 часа после операции ³	135,54* **	12,02	2,03	153,14* **	12,65	1,67	p<0,05
Через 3-е суток после операции ⁴	121,11* **	12,57	2,12	130,61* **	13,06	1,73	p<0,05
Через 14 суток после операции ⁵	106,28* **	6,43	1,09	118,23* **	15,77	2,09	p<0,05
Через 4 недели после операции ⁶	110,86 ** (n=7)	6,59	2,49	118,87 ** (n=16)	15,74	3,93	p>0,05

¹⁻⁶ — условные обозначения периодов контроля; * — достоверно по сравнению с предшествующим уровнем (p<0,05); ** — достоверно по сравнению с уровнем ААТ до операции (p<0,05).

Сравнительная динамика уровня ААТ к NR2A-субъединице NMDA-рецепторов у больных в зависимости от характера оперативного вмешательства (n=86), %

Таблица 5

Период контроля	Виды оперативных вмешательств								
	классическая КЭАЭ (n=34)			эверсионная КЭАЭ (n=49)			резекция ВСА (n=4)		
	М	σ	m	М	σ	m	М	σ	m
До операции ¹	161,76	15,49	2,69	156,35	17,24	2,46	161,25	7,80	3,90
Через 30 мин после пережатия ВСА ²	176,79	16,78	2,92	170,98	24,65	3,52	178,25	15,17	7,59
Через 3 часа после операции ³	149,76	11,84	2,06	141,62	12,86	1,84	136,25	17,56	8,78
	p<0,05								
	p<0,05								
Через 3 суток после операции ⁴	133,61	13,69	2,38	121,57	9,75	1,39	123,75	12,04	6,02
	p<0,05								
Через 14 суток после операции ⁵	118,55	13,66	2,38	107,75	8,19	1,17	105,75	11,89	5,95
	p<0,05								

¹⁻⁵ — условные обозначения периодов контроля.

висимости от характера оперативного вмешательства (табл. 5). Уровень ААТ к NR2A в группах сравнения до операции превышал нормальные значения, но при этом не различался ($p>0,05$). Во 2-й период контроля отмечался умеренный рост уровня ААТ к NR2A при отсутствии межгрупповых различий. При межгрупповом сравнительном анализе в 3-м периоде контроля наиболее быстрый темп снижения уровня ААТ к NR2A регистрировался в группе больных, которым была выполнена резекция ВСА ($p<0,05$). В 4-й и 5-й периоды контроля характер динамики и различия уровня ААТ к NR2A в группах сравнения сохранялись. При сравнительном уровне ААТ в группах больных, которым была выполнена классическая и эверсионная КЭАЭ, динамика снижения уровня ААТ к NR2A была большей в группе больных, которым была выполнена эверсионная КЭАЭ ($p<0,05$).

При операции резекции ВСА по поводу сочетания стеноза и патологической извитости среднее время пережатия ВСА составило $28,75 \pm 1,25$ мин, что было меньше, чем при операциях классической и эверсионной КЭАЭ ($p<0,05$). Увеличение уровня ААТ к NR2A через 3 часа после пережатия ВСА в этой группе больных также было минимальным по отношению к группам сравнения ($p<0,05$). Сравнительный анализ хронологических характеристик операций классической и эверсионной КЭАЭ показал, что, несмотря на незначимую разницу среднего времени пережатия ВСА ($35,42 \pm 0,69$ мин и $33,82 \pm 0,63$ мин соответственно) ($p>0,05$), темп снижения уровня ААТ к NR2A в 3–5 периоды контроля после основного этапа операции был выше при операции эверсионной КЭАЭ ($p<0,05$).

Заключение

Базовое функциональное состояние NMDA-рецепторов глутамата определяется имеющимся уровнем мозгового кровотока в пораженном со-

судистом бассейне и степенью его потенциальной компенсации за счет резервных анатомических и функциональных механизмов. Ухудшение мозгового кровотока на период пережатия ВСА во время операции является фактором, объективно утяжеляющим степень гипоксии в пораженном сосудистом бассейне и усиливающим степень альтерации NMDA-рецепторов глутамата. При этом чем больше время пережатия ВСА, тем выше степень деструктивного воздействия на NMDA-рецепторы глутамата через реализацию механизмов эксайтотоксичности.

Реакция NMDA-рецепторов на углубление имеющейся ишемии развивается быстро, в режиме реального времени. Выраженность альтерации NMDA-рецепторов глутамата зависит от времени пережатия ВСА во время операции и потенциала структурно-функциональной компенсации мозгового кровотока. Динамика восстановления NMDA-рецепторов после реконструктивных операций определяется скоростью и степенью восстановления мозгового кровотока в пораженном сосудистом бассейне.

Объективная оценка степени ишемии головного мозга, а также оценка эффективности проводимой комплексной терапии является одним из приоритетных условий при лечении больных с ишемической болезнью головного мозга.

Уровень ААТ к NR2A- субъединице NMDA-рецепторов глутамата позволяет оценить степень альтерации NMDA-рецепторов, а следовательно, объективно контролировать степень ишемии в пораженном сосудистом бассейне и эффективность проводимых лечебных мероприятий. В этой связи уровень ААТ к NR2A, регистрируемый после пережатия ВСА, может служить объективным критерием большей эффективности методики той или иной операции, позволяющей максимально сократить время операции и время пережатия ВСА до возможного технического минимума.

Литература

1. Ахмедов А. Д. и др. Каротидная энтерэктомия у больных с высоким хирургическим риском // Вопросы нейрохирургии: журн. им. Н. Н. Бурденко. 2013. № 4. С. 36–42.
2. Ворлоу Ч. П. и др. Инсульт: практ. рук-во для ведения больных. СПб.: Политехника, 1998. 629 с.
3. Гайдар Б. В. и др. Ультразвуковые методы исследования в диагностике поражений ветвей дуги аорты: учеб. пособие. Петрозаводск, 1994. 71 с.
4. Гусев Е. И. Ишемическая болезнь головного мозга // Вестник РАМН. 1993. № 7. С. 34–39.
5. Гусев Е. И. и др. Изучение уровня аутоантител к глутаматным рецепторам в сыворотке крови у больных в остром периоде ишемического инсульта // Журнал неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. 1996. № 5. С. 68–72.
6. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328 с.
7. Дамбинова С. А. Нейрорецепторы глутамата. Л.: Наука, 1989. 279 с.
8. Дамбинова С. А., Изыкенова Г. А. Аутоантитела к подтипам глутаматных рецепторов-маркеры функционального поражения головного мозга: их диагностическое значение для выявления пароксизмальной активности и

- ишемии // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 1997. Т. 47. № 2. С. 439–446.

9. Дамбинова С. А. и др. Фундаментальная значимость новых биомаркеров ишемии мозга // Мед. академ. журн. 2009. № 4. С. 107–112.

10. Дамбинова С. А. и др. Роль и место биохимических маркеров в диагностике ишемических церебральных инсультов // Журнал неврол. и психиатрии. 2010. № 9. С. 24–29.

11. Илюхина А. Ю. Динамика накопления аутоантител к глутаматным рецепторам NMDA-типа в крови больных в остром периоде церебрального инсульта: дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1999. 139 с.

12. Пат. 2146826 Российская Федерация, МПК 7 G01N33/68C07K2/00, C07K14/705, C07K16/28, C07K17/00, G01N33/535, G01N33/53, A61K39/00. Диагностический набор реагентов «CIS-тест» для выявления ишемической болезни головного мозга млекопитающих / Дамбинова С. А.; заявитель и патентообладатель Дамбинова С. А. № 98107477/13; заявл. 24.04.1998; опубл. 20.03.2000. Бюл. № 16.

13. Семьянов А. В. Особенности гамкетрической пере-

дачи и ее модуляция гетерорецепторами в поле CA1 гиппокампа: дис.... д-ра биол. наук. Лондон; Пуццо, 2002. 250 с.

14. Bamford J. et al. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction // *Lancet*. 1991. Vol. 22. № 337. P. 1521–1526.

15. Chevalier J. M. et al. Reverse endarterectomy of the internal carotid // *J. Mal. Vasc.* 1994. Vol. 19. Suppl. A. P. 18–23.

16. Crone C. The blood-brain barrier as a tight epithelium: Where is the information lacking? // *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 1986. Vol. 481. P. 174–185.

17. Danbolt N. C. Glutamate uptake // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 65. № 1. P. 1–105.

18. Haddad G. G., Jiang C. O₂ deprivation in the central nervous system: on mechanisms of neuronal response, differential sensitivity and injury // *Prog. Neurobiol.* 1993. Vol. 40. P. 277–318.

19. Hatasita Sh., Hoff I., Ishii Sh. Focal brain edema associated with acute arterial hypertension // *J. Neurosurg.* 1986. Vol. 64. № 4. P. 643–649.

20. Hegstad E. et al. Amino-acid release from human cerebral cortex during simulated ischaemia in vitro // *Acta Neurochir. (Wien)*. 1996. Vol. 138. № 2. P. 234–241.

21. Johansson B. Pharmacological modification of hypertensive blood-brain barrier opening // *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1982. Vol. 48. № 3. P. 242–247.

22. Mas J. L. et al. Endarterectomy versus stenting in patients with symptomatic severe carotid stenosis // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 355. № 16. P. 1660–1671.

23. Mead G. et al. How well does the Oxfordshire Community Stroke Project classification predict the site and size of the infarct on brain imaging? // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2000. № 68. P. 558–562.

24. Murphy V. A., Johansson C. E. Adrenergic induced enhancement of brain-blood system permeability to small nonelectrolytes // *J. Cereb. Blood Flow and Metab.* 1985. Vol. 5. № 3. P. 401–412.

25. Nag S. Cerebral changes in chronic hypertension // *Acta Neuropathol.* 1984. Vol. 62. № 3. P. 178–184.

26. Nag S. Vascular changes in the spinal cord in N-methyl-D-aspartate-induced excitotoxicity: morphological and permeability studies // *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1992. № 84. P. 471–477.

27. Nag S. Role of the endothelial cytoskeleton in blood-brain barrier permeability to proteins // *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1995. № 90. P. 454–460.

28. Nag S. The blood-brain barrier and cerebral angiogenesis: lessons from the cold injury model // *Trends Mol. Med.* 2002. № 8. P. 38–44.

29. Nourhaghighi N. et al. Altered expression of angiopoietins during blood-brain barrier breakdown and angiogenesis // *Lab. Invest.* 2003. Vol. 83. № 8. P. 1211–1222.

30. Obrenovitch T. P. et al. Excitotoxicity in neurological disorders—the glutamate paradox // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2000. Vol. 18. № 2–3. P. 281–287.

31. Olney J. W. New mechanisms of excitatory transmitter neurotoxicity // *J. Neural. Transm.* 1994. Vol. 43 (Suppl.). P. 47–51.

32. Olsen T. S. et al. Cause of cerebral infarction in the carotid territory: Its relations to the size and the location of the infarct and to the underlying vascular lesion // *Stroke*. 1985. № 16. P. 459–466.

33. Pang J. J. et al. How do tonic glutamatergic synapses evade receptor desensitization? // *J. Physiol.* 2008. Vol. 586. № 12. P. 2889–2902.

34. Siesjö B. K., Bengtsson F. Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia, and spreading depression: a unifying hypothesis // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1989. Vol. 9. P. 127–140.

35. Stewart P. A. Endothelial vesicles in the blood-brain barrier: are they related to permeability? // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2000. № 20. P. 149–163.

36. Tagami M. et al. Increased transendothelium channel transport of cerebral capillary endothelium in stroke-prone SHR // *Stroke*. 1983. Vol. 14. № 4. P. 591–596.

37. Wilmes F. J. et al. Mechanism of blood-brain barrier breakdown after microembolization of the cat brain // *J. Neuropathol. Ex. Neurol.* 1983. Vol. 42. № 4. P. 421–438.

UDK 617.53:577.152.3

Ochkolyas V. N.¹, Sokurenko G. Yu.², Skoromets A. A.¹, Dambinova S. A.¹

Reconstructive surgery of the major neck arteries as a model for investigation of the glutamate NMDA receptor response to changes in cerebral blood flow

¹ St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia

² The Federal State Institute of Public Health “The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine”, St. Petersburg, Russia
e-mail: ovn@ihb.spb.ru

Abstract

The study involved 92 patients with hemodynamically significant stenosis of the internal carotid artery. All patients underwent open reconstructive surgery on the internal carotid artery, after which the dynamics were assessed level of autoantibodies to the NR2A-subunit of the NMDA-glutamate receptor-linked immunosorbent retrospective method. Impairment of cerebral blood flow during cross-clamping of the internal carotid artery during surgery is a factor that objectively weigh down the extent of hypoxia in the affected vascular beds and enhancing the degree of alteration of NMDA-glutamate receptors. Intensity of alteration NMDA-glutamate receptors depends on the compression of the internal carotid artery and the potential structural and functional compensation of cerebral blood flow. Reactions NMDA-receptors recess existing ischemia develops quickly in real time.

Keywords: NMDA-glutamate receptors, carotid endarterectomy, cerebral blood flow.

References

1. Akhmedov A.D. Karotidnaja jendarterektomija u bol'nyh s vysokim hirurgicheskim riskom, [Carotid endarterectomy at patients with high surgical risk] // *Voprosy neirohirurgii im. N.N. Burdenko*, [The journal neurosurgery questions of N.N. Burdenko]. – 2013, no 4, pp. 36–42. (In Russian).
2. Vorlou Ch.P. Insul't: prakticheskoe rukovodstvo dlja vedenija bol'nyh, [Insult: practical guidance for maintaining patients] // Saint-Petersburg, Politehnika, [Polytechniques] 1998, 629 pp. (In Russian).
3. Gaider B.V. Ul'trazvukovye metody issledovanija v diagnostike porazhenij vetvej dugi aorty, [Ultrasonic methods of research in diagnostics of aorta arch branches disorders] // Petrozavodsk, 1994, 71 p. (In Russian).
4. Gusev E. I. Ishemicheskaja bolezn' golovnogo mozga, [Ischemic brain disease] // *Vestnik RAMN*, [The journal of Russian academy of medical science], 1993, no 7, pp. 34–39. (In Russian).
5. Gusev E.I. Izuchenie urovnja autoantitel k glutamatnym receptoram v syvorotke krovi u bol'nyh v ostrom periode ishemicheskogo insul'ta [The study of the level of autoantibody to glutamate receptors in blood serum at patients in the sharp period of an ischemic stroke] // *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. C.C. Korsakova*, [The neurology and psychiatry magazine of S.S. Korsakova], 1996, no 5, pp. 68–72. (In Russian).
6. Gusev E.I. Ishemija golovnogo mozga [Brain ischemia], Moscow, Medicina [Medicine], 2001, 328 p. (In Russian).
7. Dambinova S.A. Neiroreceptory glutamata [Glutamate Neuroreceptors] // Leningrad, Nauka [Science], 1989, 279 p. (In Russian).
8. Dambinova S.A. Autoantitela k podtipam glutamatnyh receptorov - markery funkcional'nogo porazhenija golovnogo mozga: ih diagnosticheskoe znachenie dlja vyjavlenija paroksizmal'noj aktivnosti i ishemii, [Autoantibodies to subtypes of glutamate receptors- markers of functional brain damage; their diagnostic significance for reveal of paroxysmal activity and ischemia] // *Zhurnal vysshej nervnoj dejatel'nosti im. I.P. Pavlova*, [I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity], 1997, v. 47, no 2, pp. 439–446. (In Russian).
9. Dambinova S.A. Fundamental'naja znachimost' novyh biomarkerov ishemii mozga [Fundamental significance of new biomarkers of brain ischemia] // *Medicinskij akademicheskij zhurnal*, [Medical academic journal], 2009, no 4, pp. 107–112. (In Russian).
10. Dambinova S.A. Rol' i mesto biohimicheskikh markerov v diagnostike ishemicheskikh cerebral'nyh insul'tov, [The role of biochemical markers in diagnostics of ischemic cerebral insults] // *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. C.C. Korsakova*, [The neurology and psychiatry magazine of S.S. Korsakova], 2010, no 9, pp. 24–29. (In Russian).
11. Ilyukhina A.Yu. Dinamika nakoplenija autoantitel k glutamatnym receptoram NMDA-tipa v krovi bol'nyh v ostrom periode cerebral'nogo insul'ta, [Dynamics of antibodies accumulation to glutamate receptors of NMDA type in blood of patients in the sharp period of cerebral stroke] // *Disertacija na soiskanie stepeni kandidata medicinskih nauk*, [the thesis on degree of the candidate of medical sciences], Saint-Petersburg, 199, 139 p. (In Russian).
12. Pat. 2146826 Russian Federation, MPK 7 G01N33/68C07K2/00, C07K14/705, C07K16/28, C07K17/00, G01N33/535, G01N33/53, A61K39/00. Diagnosticheskij nabor reagentov «CIS-test» dlja vyjavlenija ishemicheskoi bolezni golovnogo mozga mlekopitajushchih [The set of instruments for diagnosis of CIS-test reagents for identification of an ischemic brain disease of mammals] / Dambinova S.A.; zayavitel' i patentoobladatel' Dambinova S.A. - no 98107477/13; application 24.04.1998; published 20.03.2000, Bulletin. no 16., (In Russian).
13. Semyanov A.V. [Features of GABA ergic transmission and its modulation by hetero receptors in the field of CA1 hippocampus] // *Dissertacija doktora biologicheskikh nauk* [Thesis of the Dr.Sci.Biol.] London-Pishchino, 2002, 250 p. (In Russian).
14. Bamford J. et al. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction // *Lancet*. 1991. Vol. 22. no. 337. P. 1521–1526.
15. Chevalier J. M. et al. Reverse endarterectomy of the internal carotid // *J. Mal. Vasc.* 1994. Vol. 19. Suppl. A. P. 18–23.
16. Crone C. The blood-brain barrier as a tight epithelium: Where is the information lacking? // *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 1986. Vol. 481. P. 174–185.
17. Danbolt N. C. Glutamate uptake // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 65. no. 1. P. 1–105.
18. Haddad G. G., Jiang C. O2 deprivation in the central nervous system: on mechanisms of neuronal response, differential sensitivity and injury // *Prog. Neurobiol.* 1993. Vol. 40. P. 277–318.
19. Hatasita Sh., Hoff I., Ishii Sh. Focal brain edema associated with acute arterial hypertension // *J. Neurosurg.* 1986. Vol. 64. no. 4. P. 643–649.
20. Hegstad E. et al. Amino-acid release from human cerebral cortex during simulated ischaemia in vitro // *Acta Neurochir. (Wien)*. 1996. Vol. 138. no. 2. P. 234–241.
21. Johansson B. Pharmacological modification of hypertensive blood-brain barrier opening // *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1982. Vol. 48. no. 3. P. 242–247.
22. Mas J. L. et al. Endarterectomy versus stenting in patients with symptomatic severe carotid stenosis // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 355. no. 16. P. 1660–1671.
23. Mead G. et al. How well does the Oxfordshire Community Stroke Project classification predict the site and size of the infarct on brain imaging? // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2000. no. 68. P. 558–562.
24. Murphy V. A., Johansson C. E. Adrenergic induced enhancement of brain-blood system permeability to small nonelectrolytes // *J. Cereb. Blood Flow and Metab.* 1985. Vol. 5. no. 3. P. 401–412.
25. Nag S. Cerebral changes in chronic hypertension // *Acta Neuropathol.* 1984. Vol. 62. no. 3. P. 178–184.
26. Nag S. Vascular changes in the spinal cord in N-methyl-D-aspartate-induced excitotoxicity: morphological and permeability studies // *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1992. no. 84. P. 471–477.
27. Nag S. Role of the endothelial cytoskeleton in blood-brain barrier permeability to proteins // *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1995. no. 90. P. 454–460.
28. Nag S. The blood-brain barrier and cerebral angiogenesis: lessons from the cold injury model // *Trends Mol. Med.* 2002. no. 8. P. 38–44.
29. Nourhaghighi N. et al. Altered expression of angiopoietins during blood-brain barrier breakdown and angiogenesis // *Lab. Invest.* 2003. Vol. 83. no. 8. P. 1211–1222.
30. Obrenovitch T. P. et al. Excitotoxicity in neurological disorders--the glutamate paradox // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2000. Vol. 18. no. 2–3. P. 281–287.
31. Olney J. W. New mechanisms of excitatory transmitter neurotoxicity // *J. Neural. Transm.* 1994. Vol. 43 (Suppl.). P. 47–51.
32. Olsen T. S. et al. Cause of cerebral infarction in the carotid territory: Its relations to the size and the location of the

infarct and to the underlying vascular lesion // *Stroke*. 1985. no. 16. P. 459–466.

33. Pang J. J. et al. How do tonic glutamatergic synapses evade receptor desensitization? // *J. Physiol.* 2008. Vol. 586. no. 12. P. 2889–2902.

34. Siesjo B. K., Bengtsson F. Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia, and spreading depression: a unifying hypothesis // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1989. Vol. 9. P. 127–140.

35. Stewart P. A. Endothelial vesicles in the blood-brain barrier: are they related to permeability? // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2000. no. 20. P. 149–163.

36. Tagami M. et al. Increased transendothelium channel transport of cerebral capillary endothelium in stroke-prone SHR // *Stroke*. 1983. Vol. 14. no. 4. P. 591–596.

37. Wilmes F. J. et al. Mechanism of blood-brain barrier breakdown after microembolization of the cat brain // *J. Neuropathol. Ex. Neurol.* 1983. Vol. 42. no. 4. P. 421–438.