

Гипоксия мозга и гибель нейронов вследствие нарушения микроциркуляции в мозге и регионального мозгового кровообращения

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург
e-mail: ivanov@nc2940.spb.edu

Реферат

Рассмотрены механизмы снабжения мозга и отдельных нейронов кислородом в норме, а также при гипоксемии, аноксии, анемии и ишемии. Обсуждаются проблемы количества потребляемого нервными клетками кислорода в норме и при его недостатке, а также происхождение некроза и апоптоза нейронов. Делается вывод, что любая гибель нейронов происходит вследствие недостатка снабжения мозга энергией.

Ключевые слова: нормоксия, гипоксемия, анемия, ишемия, некроз, апоптоз, дефицит энергии.

Ivanov K. P.

Brain hypoxia and death of neurons as the result of disorder of microcirculation in the brain and of regional brain circulation

I. P. Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Science, Saint-Petersburg
e-mail: ivanov@nc2940.spb.edu

Abstract

The mechanisms are considered of supplying the brain and also separate neurons with oxygen in the norm and also during hypoxemia, anoxia, anemia, and ischemia. The problems are discussed of the quantity of oxygen consumed by the nervous cells in the norm and at its deficit, and also the origin of necrosis and apoptosis of neurons. The conclusion is made that any neuron death results from the deficit in the supply of brain with energy.

Keywords: normoxia, hypoxemia, anemia, ischemia, necrosis, apoptosis, energy deficit.

Введение

Представления о физиологических механизмах транспорта кислорода к мозгу в последнее время претерпели значительные изменения. Появились точные данные о скорости капиллярного кровотока, о значительном разбросе соответствующих значений, о влиянии скорости капиллярного кровотока на величину pO_2 в капиллярах и в тканях. Была отменена почти 100-летняя парадигма А. Крога об исключительной роли в газообмене между кровью и тканями капилляров. Все эти данные изменили представления и о развитии различных типов гипоксии в тканях мозга. Изучение величин pO_2 в мозге при нормоксии показало, что величины pO_2 испытывают колебания от 1–2 до 80–85 мм рт. ст. Это означает, в частности, что гипоксические явления имеют место в нормальном здоровом мозге. Было показано, что при гипоксии массовая адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов может затруднять капиллярный кровоток и явиться одной из причин гибели мозга при гипоксии. Гипоксия мозга не является случайным патологическим процессом. Она существует в интактном мозге благодаря физиологическим колебаниям pO_2 в разных микрорегионах мозга. Она имеет место при различных физиологических состояниях в норме, а также при различных болезнях, связанных с изменениями или нарушениями транспорта кислорода. Конечной стадией гипоксии является гибель клеток. Развитие этого процесса и конкретные причины его в настоящее

время являются предметом многочисленных физиологических и биохимических исследований. Внесены определенные изменения в современные представления о причинах деградации нервных клеток при гипоксии. Постулируется, что деградация нейронов при гипоксии или анемии связана не только с выработкой в клетке активных форм кислорода (АФК), но и с энергетической недостаточностью. Имеется в виду недостаточный синтез или полное отсутствие в клетке АТФ при гипоксии или анемии.

Снабжение мозга кислородом в физиологических условиях

Снабжение нейронов мозга кислородом зависит от множества капилляров, которые проходят в непосредственной близости от нейронов, иногда даже касаясь тел нейронов или оплетая их в виде сетчатой структуры. Конструкции капилляров вокруг нейронов чрезвычайно разнообразны и не поддаются жесткой классификации. Однако снабжение нейрона кислородом и энергоносителями зависит не только от конструкции капилляров, но и еще от многих постоянных и переменных физиологических величин. Среди них: общая плотность капиллярной сети мозга, расстояние от ближайшего капилляра до нейрона, скорость капиллярного кровотока, кислородная емкость крови, вязкость крови, ход кривой диссоциации оксигемоглобина, скорость метаболизма нервной ткани, коэффи-

циент диффузии кислорода в тканях. Имеет значение температура тканей. Своеобразные сочетания всех этих условий в различных микрорегионах мозга ведут к тому, что в разных точках мозга встречаются самые различные pO_2 . Впервые это было обнаружено тогда, когда для прямого измерения pO_2 в тканях начали применяться твердые кислородные микроэлектроды с относительно малым диаметром кончика порядка 1–5 микрон [7, 31, 41, 46, 55, 56].

Эти исследования показали, что в разных микроучастках мозга величины pO_2 в физиологических условиях в околочелюстных пространствах варьируют от 1–2 до 85 мм рт. ст. Следовательно, уже в норме отдельные микрорегионы мозга могут находиться в состоянии относительной гипоксии, и их нейроны могут страдать от недостатка кислорода. Итак, современный исследователь сталкивается с особой проблемой снабжения мозга кислородом. Она состоит в огромном разбросе величин pO_2 в тканях мозга. Этот разброс настолько велик, что средние числа pO_2 практически недостаточны для суждения о кислородном гомеостазисе мозга. Чтобы понять значение этого разброса, необходимо выяснить его причину. Как оказалось, одна из причин заключается в различиях скорости кровотока в отдельных капиллярах.

Совсем недавно полагали, что скорость кровотока в капилляре определяется каким-либо одним числом 0,5, 1,0 или 1,5 мм в секунду – в зависимости от ткани или органа, где измеряется кровоток. Предполагалось также, что поток крови в капилляре равномерен и скорость его примерно одинакова во всех капиллярах данной ткани или органа. Однако уже давно некоторые исследователи заметили, что кровоток в капиллярах колеблется. Так, Цвейфх еще в 1957 г. [68] нашел, что в некоторых капиллярах происходят значительные изменения скорости кровотока. Впоследствии было опубликовано много работ, где отмечались колебания скорости капиллярного кровотока. Однако эти данные в основном базировались на чисто визуальных наблюдениях и не могли быть сколько-нибудь точными и достоверными. Первые серьезные данные по этому вопросу были опубликованы в «Руководстве по физиологии» Американского физиологического общества [62]. В них были представлены данные по случайным и периодическим колебаниям скорости кровотока в капиллярах брыжейки. В нашей лаборатории совместно с лабораторией научной кинематографии в течение 1975 – 2000 гг. были предприняты широкие исследования скорости кровотока в артериолах, венолах и капиллярах мозга, мышц и в синусоидах печени с помощью кино–телевизионных методов [18, 20, 25, 28, 49, 51]. Мы нашли значительные различия скорости кровотока в различных капиллярах одной и той же ткани. Средние скорости (среднее из 3–5 отдельных измерений на одном и том же капилляре) различались от 0,1 до 2,0 мм/с, т. е. в 20 раз. При этом в одном и том же капилляре скорости постоянно колебались в течение 5–15 секунд в пределах 50–200 % от их средних значений. В результате измерения мы смогли составлять гистограммы скоростей в капиллярах. Гистограммы демонстрировали нормальное распределение скоростей. Очень маленькие средние

скорости порядка 0,05 – 0,2 мм/с занимали всего 4–6% от всех зарегистрированных скоростей. Очень большие средние скорости порядка 1,8–2 мм/с на противоположной стороне гистограммы занимали всего 3–4 %. Средние скорости порядка 1–1,5 мм/с занимали примерно 60–70 % всей гистограммы [18, 20, 25, 27, 28, 49, 51].

Если сопоставить гистограмму величин pO_2 в коре мозга морской свинки [46] и гистограмму скоростей капиллярного кровотока в коре мозга крысы, обнаруживается поразительное соответствие, а именно: маленькие средние скорости соответствуют относительно маленьким pO_2 . Возрастание скоростей соответствовало и возрастанию величин pO_2 . Наконец, самые большие скорости кровотока соответствовали самым большим величинам pO_2 [7, 20, 25, 52, 53].

То, что скорость кровотока влияет на снабжение кислородом тканей и повышает pO_2 в капилляре и в тканях – известно давно. Диффузные отношения и математические модели подтверждают эту хорошо известную истину. Описание эффекта и литература вопроса содержатся в книге К. П. Иванова и Ю. А. Кислякова 1979 г. [27]. Возникает вопрос, почему скорости кровотока все время испытывают сильные колебания и почему скорости в разных капиллярах различны. Многолетние наблюдения за кровотоком в микрососудах мозга, измерения скорости кровотока в капиллярах, артериолах и венолах, непосредственные наблюдения за поведением в микрососудах форменных элементов крови позволили нам разгадать эту загадку. Оказалось, что колебания скорости кровотока объясняются тем, что лейкоциты, имея объем, превышающий объем эритроцитов в два и более раза, при прохождении через капилляр замедляют кровоток, а после выхода лейкоцита из капилляра скорость кровотока на короткое время увеличивается. Различные скорости в разных капиллярах объясняются различными их диаметрами и разной длиной капилляра. Так как лейкоциты попадают в те или иные микрососуды по случайному закону, то и различия скоростей тоже имеют случайный характер. На гистограмме эти различия имеют почти нормальное распределение. Эти явления были открыты нами и тщательно изучались на протяжении последних 20 лет [13, 22–25].

Различные скорости в капиллярах лейкоцитов дают также еще один важный эффект. Он состоит в том, что в капиллярах длиной 150–400 мкм перепады величин pO_2 между артериальной и венозной частями различных капилляров имеют разное значение.

В таблице представлены соответствующие численные значения pO_2 в начале капилляра (артериальная часть) и в конце (венозная часть). Это были очень сложные опыты, поэтому нам удалось исследовать только 19 отдельных капилляров коры мозга крысы. Как видно из данных таблицы, величины перепада pO_2 в капиллярах сильно различаются и составляют от 4 до 34 мм рт. ст. при среднем значении pO_2 в аорте 83 мм рт. ст. [6, 22].

Однако толкование этих фактов встало перед одной крупной проблемой. Дело в том, что различия в pO_2 в микрорегионах мозга почти от нуля и до 10–20–30–40 мм рт. ст. можно объяснить различной скоростью кро-

вотока через капилляры. Это подтверждается фактами и расчетами. Но повышение pO_2 в некоторых капиллярах мозга до 65–70 мм рт. ст. или, тем более, до 80 мм рт. ст., т.е. как в аорте, только ускорением кровотока объяснить трудно. Здесь должна быть другая причина. После долгих поисков нам удалось ее найти. Оказалось, что стенки артериол с диаметром от 10 до 25 мк свободно пропускают кислород из крови в ткани [16, 19, 50]. Кислород, правда, в небольшом количестве, проходит и через стенки более крупных артериальных сосудов с диаметром 30–100 мкм [44]. Стало ясно, что если кислородный электрод при погружении в ткани мозга оказывается вблизи от этих сосудов или непосредственно около них, то в данной точке pO_2 будет близко к артериальной крови. Нейроны, расположенные около этих сосудов, получают кислород под относительно высоким напряжением и находятся в условиях, весьма благоприятных для снабжения кислородом. Таким образом, при всех других постоянных параметрах кислородного снабжения pO_2 различных микрорегионов тканей мозга зависит не только от скорости капиллярного кровотока, но и от расстояния от артериол диаметром от 10 до 100 мк. Эта двойная зависимость создает значительную гетерогенность

в распределении pO_2 в мозге. Как мы уже отмечали, современный исследователь сталкивается с распределением pO_2 в мозге в норме от 1–2 до 80–85 мм рт. ст. С чем связано существование таких низких pO_2 в отдельных микрорегионах мозга? Возможно, уже в норме это зависит от окклюзии микрососудов лейкоцитами. Мы наблюдали такие явления. Следовательно, гибель нейронов может происходить от недостатка кислорода по различного рода случайным причинам. При дегенеративных заболеваниях центральной нервной системы гибель отдельных нейронов может быть результатом нарушения кровоснабжения нейронов (окклюзия их лейкоцитами, процесс «запустевания» капилляров, «схлопывание» их стенок и др.). Что означает гетерогенность распределения pO_2 в тканях и в капиллярах? Прежде всего, она означает то, что нам надо оставить наши представления о могуществе средних величин, о равномерности распределения pO_2 в тканях, о равномерности кровотока в артериолах и капиллярах, о равномерности потребления кислорода тканями. Хаотичность распределения этих величин в мозге говорит о необычном способе снабжения мозга кислородом и энергоносителями. Он не имеет ничего общего с одинаковым по скорости и равномерным

Величины pO_2 на артериальном и на венозном участках капилляров коры головного мозга крысы

Таблица 1

№	Длина капилляра (мкм)	PO_2		$\Delta_{\text{кап}} PO_2$ (мм рт. ст.), различия в капилляре	$P_a O_2$ (мм рт. ст.), в артериальной крови
		арт. участ. (мм рт. ст.)	вен. участ. (мм рт. ст.)		
1	130	47	20	27	88,9
2	250	52	46	6	81,0
3	450	64	47	17	81,3
4	210	45	38	7	86,9
5	360	35	20	15	82,1
6	270	69	47	22	81,0
7	300	52	24	28	79,6
8	210	59	42	17	83,2
9	450	47	33	14	79,6
10	300	52	33	19	78,0
11	100	55	51	4	85,1
12	280	54	50	4	80,0
13	160	60	45	15	94,6
14	260	66	42	24	82,1
15	150	65	58	7	86,7
16	270	66	35	31	76,8
17	260	66	51	15	84,6
18	300	80	46	34	94,2
19	200	66	53	13	87,4
x	260	58	41	17	83,8
σ	90	11	11	2	5,0
S_x	20	2	2	9	1,2

по течению кровотока в капиллярах, которое складывалось в нашем воображении в течение многих десятков лет. Само по себе снабжение мозговых тканей кислородом и энергоносителями оказывается крайне неравномерным. Оно предполагает возникновение мгновенных недостатков и мгновенных избытков этого снабжения. Происходит ли такой способ стохастического снабжения нервных элементов мозга кровью из-за чисто физической невозможности создать равномерное снабжение каждого нейрона, или это есть своеобразный «замысел» природы, который позволяет более экономно расходовать энергию для кровоснабжения и более оперативно изменять кровотоков — остается пока неизвестным.

Энергетический бюджет мозга

Интересно, что несмотря на исключительную гетерогенность распределения скоростей кровотока и pO_2 в капиллярах, здоровый мозг человека сохраняет постоянную величину регионального кровотока и постоянную величину артериального кровяного давления в виллизиевом кругу на уровне 120–130 мм рт. ст. при колебаниях системного артериального кровяного давления примерно от 100 до 160 мм рт. ст. Мозг человека в минуту получает ≈ 60 мл крови, потребляет 3,30–3,35 мл кислорода и ≈ 7 мг глюкозы на 100 г ткани. По энергозатратам это составляет примерно 3,47 кал в секунду на весь мозг массой около 1350 г [63]. В покое или при нормальной двигательной активности потребление кислорода мозгом изменяется сравнительно мало. Известно, что при зрительных раздражениях в области зрительной коры усиливается кровоток. Считается, что кровоток усиливается в определенных точках коры при чтении, речи, решении различного рода задач. При движении рук усиливается кровоток в двигательных зонах коры. Общий кровоток коры мозга усиливается при этих актах не более чем на 10 % [18]. Самое значительное повышение потребления кислорода мозгом — на 60–70 % — происходит только при очень сильных эмоциональных возбуждениях. Вообще потребление кислорода мозгом в покое поддерживается на постоянном уровне. Снижение потребления кислорода на 20 или даже на 15 % вызывает определенные расстройства функций мозга [57].

Попытаемся рассчитать энергетические резервы мозга при внезапно наступившей аноксии. Прежде всего, сколько содержится кислорода, растворенного в веществе мозга? Оказывается, очень мало. В мозге весом 1350 г растворенного в тканях мозга кислорода содержится всего около 1,5 мл [20]. Сколько содержится кислорода в крови мозга? Если в мозге в норме каждый момент имеется около 60 мл крови, то при кислородной емкости крови человека 20 % в крови будет растворено примерно 12 мл кислорода. Если считать, что при остановке кровообращения значение будет иметь только кровь в артериолах, капиллярах и венолах, то это составит всего 6–7 мл кислорода. Итого в мозге в момент аноксии от остановки кровообращения будет содержаться максимум 8,5 мл кислорода. Так как мозг в секунду потребляет около 0,8 мл O_2 , то этого количества теоретически может хватить всего

на 10,5 секунд нормальной деятельности мозга.

Каков фактический энергетический резерв мозга при аноксии за счет АТФ? 1 г глюкозы при полном ее окислении до воды и CO_2 освобождает 3800 кал. Вопреки установившемуся мнению, энергоемкость АТФ очень мала. 1 г АТФ при расщеплении ее на АДФ и Ф освобождает всего 19 кал. Известно, что в мозге имеется 3 ммоль АТФ на 1 кг. При весе мозга 1350 г общее содержание АТФ в тканях мозга составит $3 \cdot 1,350 = 4,05$ ммоль. При расщеплении моля АТФ на АДФ и Ф (обычная реакция гидролиза АТФ, протекающая в норме) освобождается примерно 7–10 ккал. Следовательно, общий запас энергии в АТФ в мозге составит $4,05 \cdot 10 = 40,5$ кал. В мозге имеется еще 4,05 ммоль креатинфосфата, который тоже дает примерно 10 кал на ммоль. Следовательно, в сумме получается примерно 80 кал. Так как мозг в целом тратит в секунду 3,47 кал, то, следовательно, этого запаса энергии может хватить на $80 : 3,47 = 23$ секунды. В случае отдельных нейронов условия становятся еще более жесткими. Действительно, нейроны потребляют энергию примерно в 12 раз более интенсивно, чем масса мозга в среднем, т. е. примерно 41,6 кал на кг нейронов в секунду [20]. В таком случае, даже если количество АТФ в нейроне будет больше чем в окружающих тканях мозга в 5 раз, т. е. 15 ммоль АТФ на кг нейронов (т. е. 150 кал на кг нейронов), то этого «запаса» энергии АТФ при расщеплении ее на АДФ и Ф в нейроне едва хватит на 3,5 секунды. Если учитывать КрФ — то еще на 3,5 секунды.

Конечно, нужно учесть еще запасы энергии в виде глюкозы. Содержание глюкозы в мозге составляет 5 ммоль на кг, или 6,75 ммоль на весь мозг весом 1350 г. Однако при аноксии происходит только гликолиз. Его эффективность снижается по сравнению с полным окислением глюкозы до CO_2 и воды в 15–16 раз. Следовательно, из 6,75 ммоль глюкозы при гликолизе освобождается только 289 кал. Если считать, что мозг потребляет 3,47 кал в секунду, то этого количества должно было бы хватить на 1 минуту и 23 секунды в аноксических условиях. Однако переход на гликолиз не компенсирует аэриобиоз. Нормальная скорость потребления глюкозы в аэробных условиях составляет 20 $\mu\text{моль}$ на 1 г ткани в час. В анаэробных условиях, т. е. при аноксии, гликолиз усиливается и достигает 50 $\mu\text{моль}$ на 1 г в час [57]. Понятно, что усиление гликолиза в 2,5 раза при таких энергетических соотношениях не может компенсировать недостаток энергии, ибо это составит лишь около 17 % энергии, получаемой при аэриобиозе. Поэтому можно сказать, что гликолиз может способствовать сохранению жизнеспособности нервной ткани. Однако выполнение нормальных функций мозга только за счет гликолиза невозможно.

Рассмотрение энергетического бюджета мозга предоставляет важные числа. Они показывают, что мозг собственных энергоресурсов практически не имеет и снабжение его энергией практически каждую секунду зависит от доставки кислорода и энергоносителей с кровью. Следовательно, для мозга требуется абсолютная синхронность между доставкой кисло-

рода и энергоносителя (глюкозы), с одной стороны, и потреблением их мозгом, с другой стороны. Такая синхронность особенно важна для отдельных нейронов. Эта жесткая синхронность в здоровом мозге поддерживается в течение всей его деятельной жизни. Поэтому если снижается доставка кислорода к мозгу, то поддержание нормальной деятельности мозга может произойти только за счет возвращения транспорта кислорода, т. е. его регионального кровообращения, к норме.

В обзоре [2] сказано, что риск окислительного стресса — это цена, которую аэробным организмам приходится платить за более эффективную биоэнергетику. Окислительный стресс не имеет четкого определения. Под ним подразумевается широкий класс явлений, включающий повышенную внутриклеточную генерацию активных форм кислорода (АФК) и окислительное повреждение молекулярных компонентов клетки. Следует заметить, что никаких признаков эмиссии АФК в здоровых нервных клетках не имеется. Не имеется и никаких признаков других типов окислительных повреждений энергетического аппарата здоровой клетки. «Машина» нормального аэробного окисления всегда работает без перебоев, выполняя свою основную задачу: доставка кислорода и синтез АТФ.

Гипоксия мозга

Попытаемся сравнить гипоксию для мышц и для мозга. Гипоксия мышц — физиологическое явление. Она наступает сразу же после перехода мышц от покоя к напряженной работе. При этом гликолиз немедленно увеличивается в несколько сот раз и компенсирует в первое время недостаток энергии в мышцах. Затем в дело вступает мощная система резервных мышечных капилляров, которая вполне обеспечивает мышцу необходимым кислородом и энергоносителями даже при напряженной мышечной работе.

Гипоксия мозга — совсем другое событие. Оно всегда представляет экстраординарное явление. Кровяное давление в мозге поддерживается на уровне 120–130 мм рт. ст. при падении его в общей системе кровообращения до 100 мм рт. ст. и даже ниже. Выше мы уже об этом говорили. Это мощное средство поддерживать транспорт кислорода к мозгу, например, при кровопотере и других гипоксических эксцессах. Однако на уровне микроциркуляции приспособительные явления в мозге развиты сравнительно слабо. Достаточно сказать, что мозг, который потребляет 20 % всего кислородного бюджета, имеет довольно редкую капиллярную сеть, такую же, как и в покоящейся мышце. Мы обследовали у разных животных сотни капилляров мозга. Но никогда не наблюдали раскрытия новых капилляров при гипоксемии или анемии. Способом срочного приспособления к недостатку кислорода в результате гипоксемии или анемии является ускорение капиллярного кровотока. Это ускорение довольно своеобразно, а именно: уменьшается число капилляров с очень низкой скоростью кровотока и увеличивается число капилляров с более высокой скоростью кровотока. Появляются капилляры с такой высокой скоростью кровотока, которая в нор-

ме не встречается (выше 2 мм/с). В одном из наших исследований на крысах pO_2 в артериальной крови было уменьшено от $85,3 \pm 1.4$ до $37,9 \pm 1.8$ мм рт. ст. Это очень жесткая гипоксемия. Скорость кровотока в 42 капиллярах в среднем увеличилась от $0,96 \pm 0,08$ до $1,59 \pm 0,13$ мм/с, т. е. на ≈ 65 %, но потребление кислорода мозгом при этом уменьшилось в ≈ 2 раза [1]. Следовательно, мозг находился в состоянии жесткой гипоксии. В других исследованиях при достаточно жесткой анемии, при уменьшении гематокрита от 44 ± 1 до 22 ± 1 скорость кровотока в венах возросла от $2,02 \pm 0,10$ до $3,45 \pm 0,10$, т. е. на ≈ 70 %. Это сравнительно небольшие приросты скорости кровотока. При жестких гипоксемиях они не могут полностью компенсировать снижение pO_2 . Они лишь уменьшают степень кислородного голодания. Так, например, ускорение кровотока на 65 % при гипоксемии может повысить pO_2 в венозной части капилляра всего на 8 мм рт. ст. [27]. Это не компенсирует недостаток кислорода.

Каково происхождение реакции повышения скорости кровотока? Как уже отмечалось, резервных капилляров в мозге нет, и поэтому увеличение скорости кровотока через ткани за счет открытия новых капилляров практически исключается. Нет оснований предполагать расширение капилляров. Никакими аппаратами расширения просвета они в мозге не обладают. Сколько-нибудь значительного повышения давления крови при гипоксии средней тяжести мы не видели. Вообще, давление крови в виллизиевом круге, как мы уже отмечали, жестко контролируется, и обычно при гипоксии оно сохраняет свое постоянное значение. Тщательные наблюдения за мельчайшими артериолами показали, что артериолы при гипоксии расширяются. Это расширение невелико. Для артериол диаметром 26 ± 1 ($n=32$) и 46 ± 2 ($n=15$) оно статистически надежно расширяется на 45–60 % [22]. Каков непосредственный стимул для расширения артериол, мы сейчас сказать не можем. Возможно, это результат действия синокаротидных рефлексов. Возможно, это понижение pH в тканях и действие на стенку сосудов H^+ . Возможно, это действие гипоксии на внутрисосудистый эпителий и повышение выработки им NO, который, как считают, может способствовать расширению артериол.

В качестве приспособительной реакции может иметь значение повышение кислородной емкости крови. У человека она может повыситься от 18–19 % до 20–24 %. Это не очень сильная реакция. Кроме того, для ее развития нужно время, по крайней мере, несколько суток. При этом повышение кислородной емкости крови ведет к повышению ее вязкости, что замедляет движение крови по капиллярам. Поэтому у длительно хронически адаптированных к гипоксемии человека и животных кислородная емкость часто находится в пределах нормы.

Значительное защитное действие оказывает новообразование капилляров. В сущности, это очень сложное приспособление. Оно представляет собой реконструкцию всей капиллярной сети мозга. Резко уменьшается расстояние между капиллярами, и диффузия кислорода из крови к нервным клеткам становится значительно более эффективной. У крысы этот

процесс начинается через 2–3 недели после начала хронической гипоксии мозга. У человека он происходит в значительно более длительные сроки. Известно, что у младенцев, родившихся с тетрадой Фалло, васкуляризация мозга во много раз более обильна, чем в норме. Это позволяет таким младенцам существовать при напряжении кислорода в артериальной крови, которое равно pO_2 в крови человека, когда он находится на вершине Эвереста. Во всяком случае, замечательно высокая степень адаптации к гипоксемии у спортсменов-альпинистов, способных находиться на высоте до 7 тыс. метров без кислородных приборов, связана с этим типом длительной адаптации.

Иногда при адаптации придают большое значение гликолизу. Мозг в данном случае не сравним с мышцами. Мышцы при переходе от покоя к работе, как уже отмечалось выше, усиливают мощность гликолиза в несколько сотен раз. В мозге гликолиз, как мы уже отмечали, может усилить снабжение тканей мозга энергией лишь на 17 % от нормы.

Все реакции компенсации недостатка кислорода, которые мы представили, касаются гипоксемии или анемии. Можно констатировать факт, что мозг в общем плохо защищен от гипоксии таких типов. Компенсаторные механизмы, конечно, существуют, но они недостаточны для более или менее полного восстановления энергетики мозга. При ишемии, т. е. при недостаточности притока крови в нервные клетки или при полном отсутствии кровообращения никаких прямых компенсаторных механизмов в мозге не имеется. Коллатеральное кровообращение в мозге развивается медленно. Надо сказать, что никакая адаптация к недостатку кислорода невозможна без восстановления потребления кислорода до нормы. Считается, что различные вещества, которые синтезируются в клетке при недостатке кислорода (ГИФ-1, ГИФ-1а, БТШ и др. (см. ниже)), способствуют адаптации клетки к недостатку кислорода. Никаких механизмов такой адаптации не приводится. Повысить снабжение клетки кислородом через усиление кровообращения эти вещества не могут. «Вырабатывать» энергию внутри клетки эти вещества также не могут. Использовать в клетке «запасы» энергии для облегчения гипоксии невозможно, так как таких «запасов» в клетке нет.

Развитие исследований гипоксии мозга

Современная физиология в понимании механизмов гипоксии еще недавно находилась на уровне обзора Е. Опитца и М. Шнейдера, опубликованного еще в 1950 г. [58]. В этом обзоре весьма подробно описывалась диффузия кислорода из капилляров в ткани на основе довольно примитивной математической модели А. Крога, согласно которой газообмен между кровью и тканями происходит только в капиллярах и при равномерном капиллярном кровотоке. В настоящее время произошли определенные изменения в физиологической теории гипоксии.

Во-первых, измерена скорость кровотока в капиллярах и установлены очень большие различия в скорости кровотока в различных капиллярах. Показано, что большая скорость кровотока в капиллярах до определенного предела улучшает транспорт кис-

лорода и служит реакцией компенсации недостатка кислорода. Численно это доказано на математических моделях.

Во-вторых, установлены постоянные очень большие колебания скорости кровотока в отдельных капиллярах, что указывает на неравноценность различных капилляров в транспорте кислорода и указывает на существенные различия в снабжении кислородом отдельных регионов мозга.

В-третьих, показано, что эти колебания вызваны прохождением через капилляры лейкоцитов. Лейкоциты замедляют скорость капиллярного кровотока. Практически это не влияет на кровоснабжение мозга в норме, но играет важную роль в нарушении кровоснабжения мозга при гипоксии (см. ниже).

В-четвертых, отменена парадигма А. Крога, согласно которой, газообмен между кровью и тканями совершается только в капиллярах. Оказалось, что значительную часть кислорода в мозге и в мышцах ткани получают через оболочку артериол диаметром от 10 до 100 мк (до 30–50 % всего кислорода, отдаваемого кровью). Это влияет на распределение потоков кислорода из микрососудов в ткани в норме, при гипоксии и анемии.

В-пятых, оказалось, что в нейронах (и в мозге в целом) нет запаса кислорода и макроэргов. Энергетические потребности мозга в целом и в отдельных нейронах каждую секунду целиком зависят от притока крови. Вследствие отсутствия запасов кислорода и макроэргов в клетках, для нормальной работы мозга необходима жесткая синхронность между потреблением энергии мозгом и региональным кровотоком. Нейроны могут работать без притока энергии всего 7 секунд, а на самом деле, очевидно, еще меньше. Понятно, насколько большое значение имеет этот фактор при гипоксии и анемии.

В-шестых, выяснен новый механизм развития гипоксии мозга. При гипоксемии, анемии и глобальной ишемии возникает адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов (в основном венул), что затрудняет или полностью перекрывает отток крови от нервной ткани и может явиться непосредственной причиной гибели мозга и организма при гипоксии. Этот механизм открыт совсем недавно. В 1994 г. в Калифорнии на конференции по микроциркуляции был поднят вопрос о роли лейкоцитов в развитии гипоксии в мозге. Вопрос этот был чисто теоретическим, так как наблюдать поведение лейкоцитов в потоке крови в микрососудах тогда практически никто не мог. Однако в последующие несколько лет появились интересные работы [49, 51], в которых было показано, что, действительно, при гипоксии число актов адгезии лейкоцитов к внутренним стенкам микрососудов резко возрастает. Это затрудняет микроциркуляцию. Было показано, что через 12–24 часа лейкоциты переходят из сосудов в ткани, как это происходит при воспалении. Некоторые антиадгезивные препараты, будучи введенными в кровь непосредственно в момент развития гипоксии или аноксии, уменьшают число актов адгезии. Оставалось неясным, что вызывало нарушение микроциркуляции — интервенция лейкоцитов в ткани и разрушение капилляров агрессивными веществами, выделяемыми

лейкоцитами (хлорноватистая кислота), или механическое препятствие кровотоку, вызываемое адгезией лейкоцитов к стенкам микрососудов [54].

В 2003 г. мы впервые провели исследования лейкоцитов со специальным объективом, который позволял наблюдать и фиксировать на видеопленке движение лейкоцитов в крови микрососудов мозга через окно в черепе крысы. После этого мы смогли выполнить еще несколько таких работ и снять несколько видеофильмов [13–15, 23]. Мы показали, что в норме лейкоцит замедляет движение крови и кровь проходит через капилляр или венулу с пониженной скоростью. В норме это не мешает снабжению мозга кислородом. Но замедление играет роковую роль в патологии. Дело в том, что оно облегчает акт адгезии лейкоцита к стенкам микрососудов, поскольку при гипоксии антиадгезивные механизмы для лейкоцитов резко ослабевают. Таким образом, чисто физиологическая задержка лейкоцитов в микрососудах становится одной из причин патологического нарастания актов адгезии лейкоцитов при гипоксемии, анемии и особенно при частичной ишемии. В результате при тяжелой гипоксии происходит образование в сосудах лейкоцитарных конгломератов. Кровоток в венулах и мелких венах останавливается. Венулы при этом спадаются. Так, лейкоциты, которые защищают организм от инфекции, оказываются, могут стать причиной его гибели. При инсульте мозга образуется очаг некроза, где клетки подвергаются разрушению. Адгезия лейкоцитов происходит в основном в пенумбре, т. е. в тонком слое тканей, который прилежит к очагу некроза. Можно полагать, что нейроны мозга в пенумбре гибнут очень медленно, поскольку их гибель наступает соответственно постепенному уменьшению их кислородного снабжения в результате постепенной окклюзии артериол и венул. Если после инсульта возобновляется кровообращение, то адгезированные лейкоциты и лейкоцитарные конгломераты «смываются» кровью [23]. Кровообращение восстанавливается, и нейроны возобновляют свои функции. Наиболее прочные адгезированные лейкоциты еще остаются в микрососудах и продолжают нарушать капиллярный кровоток. В таком случае некоторые нейроны погибают позже. Их находят в мозге через несколько дней после инсульта и восстановления кровотока [54].

В случае, если кровообращение не восстанавливается, все нейроны в пенумбре погибают. Некротический очаг инсульта расширяется. Он может вызывать нарушение жизненно важных функций мозга и гибель организма.

В-седьмых, были сделаны попытки измерить pO_2 в непосредственной близости к нейрону. Методика таких измерений очень сложна, а разброс этих величин очень велик. Он составляет от 25 до 10 мм рт. ст. Тем не менее это наиболее важный показатель гипоксии и причины клеточной гибели. Без него невозможно точно определить степень кислородного голодания мозга и отдельных нервных клеток. Можно надеяться, что в ближайшее время мы сможем измерять эти величины достаточно точно.

В-восьмых, в настоящее время мы узнали множество биохимических изменений в мозге, которые

происходят после начала гипоксии. К ним относится, например, синтез особых соединений (Гиф-1 и Гиф-1 α), которые, как полагают, играют роль в адаптации клеток к гипоксии. Обнаружены несколько реакций, которые могут быть источником активных форм кислорода (АФК) в митохондриях при гипоксии [2]. Эти реакции в настоящее время считаются главной причиной гибели клеток при апоптозе. При гипоксии обнаружено повышение содержания ионов кальция в цитозоле клеток, что считается одной из важнейших причин нарушения функций и гибели клеток при гипоксии. Значительное внимание уделяется в настоящее время белку теплового шока (БТШ). Считается, что этот белок увеличивает резистентность клетки к повышенной температуре, а также, как будто бы, повышает ее устойчивость к холоду и к гипоксии. Интересно, что в связи со значительными достижениями биохимии при исследованиях гипоксии стало меньше уделяться внимания изучению микроциркуляции в мозге и в различных органах, непосредственному определению pO_2 в различных тканях, органах и в отдельных клетках, что замедляет физиологические исследования причин гибели нейронов.

С развитием учения о гипоксии в литературе появляются различные предположения об механизмах улучшения транспорта кислорода и энергии. Одной из таких гипотез являются нитчатые митохондрии. Предполагается, что нитчатые митохондрии представляют из себя кабель, по которому энергия может направляться в различные регионы клетки [38]. Это очень интересная гипотеза о передаче энергии в пределах одной клетки. Однако впоследствии была сделана попытка постулировать кабельную передачу энергии из клетки в клетку через специфические «нексусы», т. е. через соединения нитчатых митохондрий одних клеток с другими. Возникла даже идея, что при такого рода передаче энергии клетки утрачивают зависимость ее метаболизма от pO_2 в тканях, поскольку энергия в широких пределах может доставляться клеткам из других клеток [11, 12]. Предполагается, что такие механизмы передачи энергии имеют место в мышцах. Надо сказать, однако, что мышечные волокна часто сокращаются независимо одно от другого (при холодной дрожи, при судорогах). Нексусы в таких случаях должны разрываться. Кроме того, каждая мышечная или какая-нибудь другая клетка имеет свой весьма напряженный энергетический баланс. В покое или при работе мышечное волокно обеспечивает энергией только самое себя. Нет каких-либо физиологических данных об избытках энергии в клетке, которые она могла бы передавать другим клеткам. Что касается нервных клеток, то такая передача энергии в них невозможна еще и потому, что тела нервных клеток обычно не контактируют друг с другом. Таким образом, эта очень интересная идея еще требует развития.

Другой гипотезой является существование сенсоров (чувствительных элементов) к напряжению кислорода в каждой клетке. Предполагается, что специальные кислородные сенсоры в самих клетках улавливают изменения концентрации (напряжения) кислорода в клетке, регулируют и улучшают таким способом снабжение клетки энергией, регулируют

энергетические потоки внутри клетки, ускоряют синтез белков, которые обеспечивают выживание клетки и даже влияют на величину pO_2 в клетке [12]. Полагают, что такая независимость клетки от основных физиологических жизнеобеспечивающих систем облегчает работу клетки и способствует более быстрому процессу адаптации к гипоксии [9, 30, 42, 43, 67]. Высокая чувствительность различных тканей организма к различным внешним и внутренним воздействиям всегда зависит от специфических внеклеточных рецепторов. Так, например, любая клетка воспринимает достаточно грубые механические воздействия и отвечает на них. Однако в тканях имеются специфические механорецепторы, которые во много раз чувствительнее самой клетки. Благодаря им работают мышцы и суставы, благодаря специфическим механорецепторам человек обладает высочайшей тактильной чувствительностью. При этом важно отметить, что в клетках таких рецепторов нет. Объединение чувствительных элементов в специальные органы или центры является основным принципом конструкции любого живого организма. Так, например, в клетках тела нет терморецепторов. В виде «голых» нервных окончаний они имеются только в коже и располагаются внеклеточно. Тем не менее температура внутренних органов у человека в термонеutralной зоне контролируется с точностью до $0,08-0,1^\circ\text{C}$. Точно так же рефлекторно с помощью рецепторов дуги аорты и каротидных клубочков определяется насыщение кислородом крови и даже содержание кислорода в крови. При гипоксии так регулируется усиленный приток крови к мозгу. При ишемии, вызванной резким ограничением кровотока или полным его прекращением в результате тромба или сильной кровопотери, может развиваться околное кровообращение. Никаких других физиологических реакций при ишемии мозга не возникает.

Может ли кислородный сенсор отдельной клетки повлиять на снабжение клетки энергией, на величину pO_2 в клетке, вызвать реакции кровообращения? В цитированных выше работах о кислородных сенсорах в отдельных клетках приводятся многочисленные предположения о том, что при гипоксии в клетке возникают определенные соединения, которые, как считается, вызывают явления адаптации клетки к гипоксии. Имеются в виду упомянутые выше тяжелые молекулы ГИФ-1, ГИФ-1 α и БТШ. Как пишут авторы работ по клеточным сенсорам кислорода: «Благодаря кислородному сенсору клетка формирует адекватные ответы различных внутриклеточных функционально-метаболических систем на гипоксию» [30]. Заметим, прежде всего, то, что в нервной клетке запасов энергии нет. Энергии АТФ при аноксии достаточно для нормальной жизни клетки всего в течение нескольких секунд. Следовательно, повышение снабжения энергией в самой клетке с помощью кислородных сенсоров за счет внутренних «запасов» невозможно. Усиление притока кислорода и энергоносителей при гипоксии мозга может произойти только за счет усиления кровоснабжения клеток. Весьма сомнительно, что тяжелые молекулы ГИФ-1 и ГИФ-1 α (или какие-нибудь другие тяжелые молекулы гипоксического происхождения) по выходе из клетки могут достигнуть

артериол и вызвать их расширение. Сравнительно небольшое ускорение капиллярного кровотока, скорее всего, вызвано кислыми продуктами наступающего гликолиза и, в частности, ионами водорода (H^+), которые легко проникают в глубину тканей. Трудно представить действие каких-либо специфических белков, образующихся при аноксии, которые могут повышать устойчивость клетки к гипоксии в отсутствие в клетке кислорода и «запаса» энергии. Как уже отмечали выше, только усиление кровообращения, притока кислорода и энергоносителей может достаточно эффективно повысить жизнедеятельность нервных клеток. Мы знаем также, что никакая хроническая адаптация к гипоксии мозга невозможна без усиления его кровоснабжения и нормализации потребления кислорода. Поэтому «прекондиционирование» — предмет особого интереса современных исследователей гипоксии, может быть просто результатом улучшения кровообращения в мозге, последствия которого могут держаться очень долго. Поскольку изучение «прекондиционирования» практически никогда не совмещают с изучением микроциркуляции мозга, с измерением pO_2 кислородным микроэлектродом в тканях мозга, с изучением потребления кислорода мозгом, то пока о механизмах «прекондиционирования» сказать что-нибудь конкретное очень трудно. Скорее всего, эффект «прекондиционирования» — это просто результат улучшения кровоснабжения мозга.

Гибель клеток. Проблемы некроза и апоптоза при гипоксии

Смерть клеток мозга имеет место при инсульте в некротическом очаге. Она может происходить и в пенумбре, когда постепенное уменьшение питания нервной клетки приводит ее к апоптозу. Наконец, у любого здорового взрослого человека происходит каждодневная убыль количества нейронов путем апоптоза. Последний обзор Липтона о причинах клеточной смерти при некрозе [54] опирался на 1300 литературных источников. На основании широкого знакомства с литературой по этому вопросу было названо 10 причин клеточной смерти путем некроза при ишемии и других видах мозговой гипоксии. Перечислим их: 1) понижение pH; 2) вхождение большого количества ионов Na^+ внутрь клетки; 3) вхождение в клетку ионов Ca^{2+} и накопление в цитозоле этих ионов; 4) активность свободных радикалов; 5) генерация NO; 6) активация капаз; 7) аккумуляция цинка; 8) понижение содержания АТФ в клетке; 9) повышение содержания глутамата в клетке; 10) повышение содержания свободных жирных кислот в цитозоле.

Попытаемся подвести итог. Причины под номерами 1, 2, 3, 6, 8, 9 могут быть вызваны одним главным событием — энергетическим голоданием (снижением содержания или полным отсутствием в клетке АТФ). Повышение активных форм кислорода — возможная, но в общем сомнительная причина, ибо при жестокой гипоксии или, тем более, при аноксии кислорода в клетке очень мало или его нет совсем. Генерация NO, повышение свободных жирных кислот и аккумуляция цинка в цитозоле не дают, как нам кажется, достаточных оснований для предположений о смертельной

опасности этих факторов для клетки. Поэтому можно прийти к заключению, что основной причиной смерти клетки является ее энергетическое голодание в связи с резким понижением или отсутствием в цитозоле АТФ. Именно по этой причине при инсульте мозга возникает некротический очаг.

К очагу некроза прилежит слой тканей, где еще сохраняется 30–40 % кровообращения. Этот слой, как отмечалось выше, называется пенумброй. Клетки в пенумбре сохраняют жизнеспособность в течение нескольких часов или даже дней и затем погибают, если не восстанавливается кровообращение, увеличивая очаг некроза [59, 60]. Если же кровообращение восстанавливается, эти клетки возобновляют свои функции, но не все. Некоторые из них все же погибают. Можно полагать, это те клетки, которые и в норме находились в неблагоприятных условиях снабжения кислородом, т. е. когда pO_2 в их окружении составляло лишь 1–5 мм рт. ст. [27, 46]. Если затромбированы обе каротидные артерии (или пережаты в эксперименте), нейроны получают примерно 30–40 % крови от нормального кровообращения через позвоночные артерии. В таком случае очаг некроза сразу не образуется. Нейроны погибают через несколько часов, если кровообращение не восстанавливается. Такую гибель клеток в результате медленного ухудшения их энергоснабжения можно назвать апоптозом.

Считается, что апоптоз — программируемая организмом гибель клеток. Это означает, что если во время предшествующей гипоксии или аноксии жизненно важные элементы клеточной структуры и ферментные ансамбли были серьезно повреждены, то выживание такой клетки невозможно. Тогда она погибает в результате действия специфических механизмов гибели клетки. Таково толкование сущности апоптоза.

Сам по себе термин «апоптоз» был предложен всего лишь около 30 лет тому назад Керром и др. [52]. Современная теория апоптоза, или программируемой гибели клеток (ПГК), базируется на результатах биохимических и электронно-микроскопических исследований. Главная морфологическая особенность апоптоза заключается в сжатии и фрагментации клетки на так называемые апоптозные тельца с последующим их фагоцитозом соседними клетками или макрофагами. Клетка исчезает, не вызывая воспалительной реакции и омертвления тканей [10]. Согласно Бра и др. [5], апоптоз — это сжатие клетки, олигонуклеосомная фрагментация ДНК, конденсация хроматина и распад клетки с образованием так называемых апоптотических телец. Этот тип гибели включает и фагоцитоз. Биохимические характеристики ПГК предполагают участие в апоптозе особых протеиназ (казпаз) и ряда других реагентов. Таков «тихий» уход клетки из жизни, или ПГК.

В настоящий момент интерес к апоптозу очень велик. Число работ по этой теме в 1993 г. составило 677. В 1994 — 853, в 1995 — 1200 [3]. В 2005 г. их количество уже измерялось несколькими тысячами. Количество не решило проблему. Феноменология биохимических изменений при апоптозе различных клеток столь разнообразна, что до сих пор непонятно, какие факторы являются общими, а какие индиви-

дуальными [33]. Имеется длинный список веществ, вызывающих апоптоз. Число их все время увеличивается, и разобраться в проблемах апоптоза становится все сложнее.

Наша основная задача в настоящей работе, рассмотреть апоптоз клеток при гипоксии или аноксии. Тем не менее представляет интерес коснуться более общих проблем апоптоза, например, нервных клеток при дегенеративных заболеваниях нервной системы, а также различных органов и тканей. Чтобы выяснить наиболее современные точки зрения на механизмы различных случаев апоптоза, мы воспользовались несколькими недавними обзорами этой проблемы, составленными рядом высококвалифицированных отечественных и зарубежных авторов и опубликованными недавно в журнале «Биохимия» [2, 5, 11, 12, 29, 35, 36, 40]. В большинстве этих обзоров учеными проводится, в сущности говоря, одна идея. Она состоит в том, что главным механизмом, который вызывает апоптоз, являются кислородные радикалы или активные формы кислорода (АФК) [2, 5, 11, 12, 29, 35]. Предполагается, что АФК образуются в митохондриях, где непрерывно протекают интенсивные окислительные процессы, путем одноэлектронного окисления. Выделены, как уже отмечалось, несколько определенных реакций, которые, благодаря благоприятным термодинамическим условиям, могут стать продуцентами АФК в митохондриях [2]. В 1996 г. были продемонстрированы мыши с гомозиготным нокаутом марганецсодержащей супероксиддисмутазы (MnSOB), локализованной в митохондриальном матриксе. Единственной функцией этого фермента является ускорение дисмутации (уничтожения) радикала супероксида в H_2O_2 . Оказалось, что эти животные при отсутствии этого фермента после рождения живут всего несколько дней [4]. Совсем недавно В. П. Скулачев опубликовал интересную статью о лечении болезней и физиологических нарушений препаратами из очень активных антиоксидантов [37]. Было показано, что АФК действительно имеют большое значение в генезе различных болезней и физиологических отклонений, а также в гибели клеток путем апоптоза. Однако большой список весьма разнохарактерных болезней позволяет предполагать, что действие АФК сочетается с еще какой-то универсальной причиной указанных болезней. Эта возможная универсальная причина касается и гибели клеток. Надо сказать, что трудности непосредственного количественного определения АФК в клетке значительно осложняют понимание их роли в физиологии и патологии. Так, например, вопросы биохимии апоптоза решаются обычно на культурах тканей, изолированных митохондрий, «голых» ферментов. При этом ни уровень потребления кислорода культурой, ни непосредственно определение pO_2 в культуре обычно не определяются. Отметим, что исследования на культурах тканей, на изолированных митохондриях или на их фрагментах, строго говоря, не отражают нормальный процесс аэробноза, проходящий в нормальных интактных клетках. Очень трудно изучать нормальный обмен, его физиологические колебания, происхождение в клетке тех или иных продуктов клеточного обмена

ОБЗОРЫ

веществ на культурах тканей или на изолированных митохондриях. Эти условия очень далеки от нормы. По этому поводу можно привести цитату из обширного обзора Андреева и др. [2], посвященного роли АФК в апоптозе: «Возможность генерации АФК в каждом из 7 митохондриальных ферментов была показана в эксперименте как с изолированными митохондриями, так и с ферментами. Однако их вклад в общую продукцию АФК митохондриями в физиологических условиях пока еще не известен».

Если иметь в виду взрослого здорового человека (или взрослое здоровое животное), то при нормальном темпе обмена веществ образование в митохондриях сколько-нибудь значительного количества АФК можно подвергнуть сомнению. Ниже представлены величины pO_2 в сосудах, в межклеточной жидкости, в клетках и в митохондриях.

100 mm Hg *Aorta*;
80 mm Hg *Arterioles*;
60–40 mm Hg *Capillaries*;
20–10 mm Hg *Tissue*;
5–1 mm Hg *Intracellular*;
> 0,5 mm Hg *Mitochondria*.

Этой таблицей за рубежом пользуются лекторы, читающие лекции студентам. Эта таблица фигурирует и в учебниках физиологии и биохимии.

По сути, эта таблица нуждается в коррекции, потому что в артериолах, капиллярах и тканях величины pO_2 варьируют значительно больше, чем это представлено в таблице. Но одна цифра в этой таблице совершенно правильна — это pO_2 в митохондриях, которая меньше 0,5 мм рт. ст. Поскольку константа Михаэлиса для цитохромоксидазы составляет меньше 0,1 мм рт. ст. pO_2 , то концентрация кислорода в митохондрии может иметь совершенно ничтожную величину, хотя темп обмена кислорода, благодаря особым диффузионным отношениям внутри клетки, может быть очень высоким [20]. Не совсем ясно, может ли образоваться АФК в митохондриях при столь низкой концентрации кислорода. При гипоксии концентрация кислорода в митохондриях еще уменьшается. Если все же АФК и образуются в небольших количествах, то достаточно мощная система ферментативной защиты клеток уничтожает их. При аноксии продукция АФК исключается полностью. При гипоксии и аноксии АФК не имеют прямого отношения к гибели клетки. Это хорошо доказывается довольно простыми фактами. Известно, что нервные клетки мозга после остановки сердца функционируют только 4–6 минут. Далее они погибают. Однако если кровообращение восстанавливается и кислород поступает в клетку, ее жизнедеятельность восстанавливается. Поэтому еще в 1966 г. Американское общество хирургов кровообращения выпустило специальную инструкцию для реаниматоров, в которой хирургам предписывалось прекращать все спасательные мероприятия по восстановлению функций мозга, если после остановки сердца прошло 6 минут [32]. Однако позже оказалось, что интенсивное восстановление кровообращения с помощью крови, высоконасыщенной кислородом, было способно возобновлять функции мозга через

10–15 и даже через 20 минут после его остановки [39, 47, 64 - 66].

Следовательно, без каких-либо мер, угнетающих производство АФК, большое количество кислорода восстанавливает энергетику клетки. Нарушения дыхания или деятельности сердца при гипоксии разной степени и различных сроков действия легко восстанавливаются, если организм получает кислород в нормальном или повышенном количестве. Никакого угнетения продукции АФК здесь не усматривается. Конечно, при быстрой реоксигенации состояние гипоксического организма ухудшается, однако достаточно продолжительная реоксигенация спасает организм от смерти.

Как нам кажется, в здоровом взрослом организме в митохондриях, благодаря очень низкому pO_2 , эмиссия АФК в клетках очень низка или ее фактически нет. Как мы уже отмечали, «машина» аэробного окисления работает без перебоев. Она доставляет кислород и синтезирует АТФ. Является ли очень низкая концентрация кислорода в норме специальным защитным актом приспособления против АФК, или это рудимент первых одноклеточных аэробов, которые возникли в среде, где содержались лишь следы кислорода — неизвестно.

Конечно, при определенных окислительных процессах эмиссия АФК происходит. Биохимия и лечение многих болезней с помощью антиоксидантов подтверждают это. Тогда частицы АФК могут принимать участие в процессе апоптоза. Тем не менее возникает вопрос, поставленный выше, с каким универсальным фактором нарушения клеточного обмена и клеточной гибели может сочетаться действие АФК при апоптозе?

В различных обзорах еще 10-тилетней давности часто упоминалось, что апоптоз возникает при нарушении синтеза АТФ и возникновении энергетической недостаточности в клетке. [34, 53]. Такие замечания делались и позже. Так, в обзоре 2005 г. Бра и др. [5] в качестве причины апоптоза кроме АФК рассматриваются и нарушения энергетики. В этом обзоре говорится: «Одним из основных показателей апоптоза в клетке служит снижение мембранного потенциала митохондрий. Именно снижение потенциала часто используется как индикатор клеточной гибели, поскольку мембранный потенциал служит основным источником энергии для синтеза АТФ. Снижение потенциала приводит к катастрофическим последствиям для клеточного дыхания, энергетики и, в конечном итоге, к гибели клетки» (стр. 287). В 2005 г. Б. В. Черняк и др. [40] отмечают: «Основным стимулом к апоптозу было энергетическое голодание клеток» (стр. 298). В обзоре Сарис и Карафоли 2005 г. [36] сказано: «Происходит ли гибель клеток путем некроза или от апоптоза, программируемая клеточная смерть (апоптоз) зависит в конечном счете от уровня АТФ в клетке» (стр. 236). В обзоре Д. Б. Зорова и др. 2005 г. [11] подчеркивается положение, что поддержание мембранного потенциала митохондрий необходимо для синтеза АТФ. Следует отметить, что при эмиссии АФК не бывает прямых повреждение клеточных структур. Но,

как отмечают М. Бра и др. [5], АФК нарушают физиологические функции электрон-транспортных цепей митохондрий. Это приводит к снижению синтеза АТФ и к значительным изменениям биоэнергетического статуса клетки. Иными словами, АФК не «сжигают» структуры клеток, которые производят АТФ, но просто нарушают их функции и ограничивают (в той или иной степени) синтез АТФ в клетке. Следовательно, на основании этих работ и общих логических выводов появляются резоны рассматривать клеточную гибель при апоптозе как результат повреждений энергообразующих систем, снижения или прекращения синтеза макроэргов, истощения минимальных энергетических резервов. В таком случае «бурная» гибель клетки при некрозе и «тихая» смерть при апоптозе будут иметь одну и ту же причину. Как нам кажется, такое заключение очень важно. Оно не отрицает важную роль АФК при апоптозе, когда происходят отклонения окислительных процессов от нормы. Но оно дает этим причинам энергетическое обоснование. Ведь умирающий человек делает последний вдох из-за недостатка энергии, и сердце у него останавливается тоже от недостатка энергии. В конечном счете, смерть практически в любой форме — это недостаток энергии.

Заметим, что причины гибели клеток при апоптозе могут быть связаны с энергетической недостаточностью косвенно, через другие специфические механизмы. Так, например, хорошо известно, что накопление в цитозоле клетки ионов кальция ведет к нарушению различных метаболических процессов, к функциональному параличу и гибели клеток. По мнению Сарис и Карафоли (2005), избыток ионов кальция в цитозоле может быть причиной апоптоза [36]. Такой избыток возникает, в частности, при гипотермии. Оказывается, что в данном случае холод разрушает четвертичную структуру АТФ-синтазы. Возникает недостаток энергии для «выкачивания» ионов кальция в межклеточное пространство против очень большого градиента концентраций Ca^{2+} . В результате наступает холодовой паралич клетки и ее последующая гибель. Если снизить этот градиент путем снижения содержания Ca^{2+} в крови и в межклеточной жидкости и резко уменьшить энергетические расходы на «выкачивание» Ca^{2+} , то можно снять функциональный паралич клеток, восстановить их функции и возобновить жизнедеятельность организма. Эти опыты описаны нами в 3-м томе монографии «Основы энергетики организма» [21] и в статье, опубликованной в 2007 г. [26]. Таким образом, в конечном счете, апоптоз из-за избытка ионов кальция в цитозоле развивается под влиянием недостатка энергии, и потому «тихая» смерть клетки оказывается результатом энергетической недостаточности.

Удивительно то, что роль недостаточности энергии при развитии апоптоза упоминается в различных статьях только мельком. Выше мы приводили отдельные высказывания различных исследователей по этому вопросу. По-прежнему доминирует точка зрения, что в основе апоптоза лежит синтез активных форм кислорода. В литературных списках указанных выше 8 современных обзоров проблемы апоптоза практически нет ни одного напоминания о работах противо-

положного плана, т. е. роли нарушений энергетики. В обширном материале статьи В. П. Скулачева [37], который можно считать наиболее серьезным доказательством роли АФК в развитии апоптоза и в развитии старческих болезней, нет ни одного упоминания об энергетической недостаточности во время этих процессов. В очень важной работе о происхождении апоптоза (Программированная клеточная гибель: сборник статей/под ред. В. С.Новикова. СПб.: Наука, 1996) рассматриваются многочисленные биохимические и физиологические теории апоптоза. Однако о роли в этом энергетической недостаточности практически даже не упоминается. Нам неизвестны более или менее крупные современные обзоры по этой проблеме. Поэтому какое место занимает недостаточность энергетики в происхождении апоптоза и старении клеток, остается пока нераскрытой проблемой.

В проблеме энергетики апоптоза остается еще один важный вопрос. Он состоит, частности, в нарушении капиллярного снабжения нейронов кровью. Мы уже ранее говорили, что при гипоксии мозга различного происхождения происходит массовая адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов, что вызывает нарушение снабжение нервных клеток кровью и часто ведет к полной окклюзии микрососудов. Имеются и другие причины нарушения капиллярного кровоснабжения, а именно: запустевание капилляров или «схлопывание» их стенок. Иначе говоря, постепенные нарушения капиллярного кровотока могут оказаться одной из причин развития апоптоза или «тихой» смерти клеток мозга. Может быть, именно нарушения капиллярного кровотока являются первичной причиной различных патологических изменений в обмене веществ клетки, которые и приводят ее к гибели.

Заключение

В нашем обзоре приведены различные не известные ранее механизмы и особенности транспорта кислорода тканям. Особенно интересно крайне неравномерное капиллярное кровообращение, отмена парадигмы А. Крога. В области гипоксии не известным ранее процессом можно считать массовую адгезию лейкоцитов к стенкам микрососудов, затруднение кровотока вплоть до полной окклюзии сосудов. Для энергетического обмена мозга важнейшим фактом является то, что в мозге и в его нейронах нет сколько-нибудь достаточного «запаса» энергии. Поэтому каждое мгновение необходимо синхронизировать доставку кислорода с потреблением энергии мозгом за счет микроциркуляции и регионального кровотока, что создает сложные условия для поддержания мозгового энергообмена. Механизмы некроза и апоптоза нервных клеток является важнейшей теоретической и практической проблемой реанимации мозга. Хотя эти проблемы тщательно и всесторонне изучаются, все же, как нам кажется, в них еще имеются многочисленные пробелы. В частности, это касается энергетики. Очевидно, физиологические и патологические механизмы некроза и апоптоза связаны с недостаточностью энергии, ибо законы жизни и смерти — это законы энергетики организма.

ОБЗОРЫ

Литература

1. Алюхин, Ю. С. Тканевое дыхание мозга при гипоксии и гипотермии / Ю. С. Алюхин, М. К. Калинина // Физиол. журн. СССР. — 1970. — Т. 56. — № 1. — С. 19–25.
2. Андреев, Ю. А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / Ю. А. Андреев, Ю. Е. Кушнарева, А. А. Старков // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 246–264.
3. Бахтин, М. Ю. Информационные аспекты проблемы апоптоза / М. Ю. Бахтин [и др.] // Программируемая клеточная гибель. Гл. 16 / под ред. В. С. Новикова. — СПб. : Наука, 1996. — С. 224–229.
4. Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 246–264.
5. Бра, М. Митохондрии в программированной гибели клетки : различные механизмы гибели / М. Бра, Б. Квинан, С. А. Сузин // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 284–293.
6. Вовенко, Е. П. Продольный градиент напряжений кислорода внутри капилляров коры головного мозга / Е. П. Вовенко, К. П. Иванов // Доклады РАН. — 1997. — Т. 353. — № 1. — С. 121–123.
7. Демченко, И. Т. Исследование капиллярного распределения pO_2 в головном мозгу / И. Т. Демченко, А. Е. Чуйкин // Физиол. журн. СССР. — 1975. — Т. 61. — С. 1310–1316.
8. Демченко, И. Т. Кровоснабжение бодрствующего мозга / И. Т. Демченко. — Л. : Наука, 1983. — 170 с.
9. Захаров, Ю. М. Чувствительность клеток к кислороду и продукция эритропоэтина / Ю. М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2005. — Т. 91. — № 9. — С. 993–1004.
10. Зеленина, Н. В. Программированная клеточная гибель в онтогенезе / Н. В. Зеленина, З. К. Данилов // Программированная клеточная гибель. Т. 3. Гл. 5 / под ред. В. С. Новикова. — СПб. : Наука, 1996. — С. 79–103.
11. Зоров, Д. Б. Друзья и враги. Активные формы кислорода / Д. Б. Зоров [и др.] // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 265–272.
12. Зоров, Д. Б. Митохондрия как многоликий янус / Д. Б. Зоров // Биохимия. — 2007. — Т. 72. — Вып. 10. — С. 1371–138.
13. Иванов, К. П. Влияние лейкоцитов на микроциркуляцию в мозге / К. П. Иванов, Н. Н. Мельникова // Вестник Академии мед. наук. — 2004. — Т. 29. — № 4. — С. 3–13.
14. Иванов, К. П. Восстановление микроциркуляции в мозге во время ишемии / К. П. Иванов, Н. Н. Мельникова // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. — 2006. — Т. 92. — № 4. — С. 420–428.
15. Иванов, К. П. Динамика лейкоцитов в микрососудах мозга и ее нарушения при гипоксии / К. П. Иванов, Н. Н. Мельникова // Гематол. и трансфузиол. — 2003. — Т. 48. — № 2. — С. 20–28.
16. Иванов, К. П. Диффузия кислорода из артериол / К. П. Иванов, А. Н. Дерий, М. О. Самойлов // ДАН СССР. — 1979. — Т. 244. — С. 1509–1513.
17. Иванов, К. П. Изменение микроциркуляции при лейкоцитозе / К. П. Иванов, Ю. И. Левкович, С. В. Москвитская // Физиол. журн. СССР. — 1992. — Т. 76. — С. 321–326.
18. Иванов, К. П. Микроциркуляция в печени в норме и при гипоксемии / К. П. Иванов, М. К. Калинина, Ю. И. Левкович // Физиол. журн. СССР. — 1982. — Т. 68. — С. 1165–1170.
19. Иванов, К. П. О специфических особенностях снабжения тканей кислородом из артериол и капилляров / К. П. Иванов, Е. П. Вовенко // ДАН СССР. — 1986. — Т. 286. — № 1. — С. 227–229.
20. Иванов, К. П. Основы энергетики организма. Т. 2 : Биологическое окисление и его обеспечение кислородом / К. П. Иванов. — СПб. : Наука, 1993. — 270 с.
21. Иванов, К. П. Основы энергетики организма. Т. 3 : Современные проблемы, загадки и парадоксы регуляции энергетического баланса / К. П. Иванов. — СПб. : Наука, 2001. — 275 с.
22. Иванов, К. П. Основы энергетики организма. Т. 4 : Энергоресурсы организма и физиология выживания / К. П. Иванов. — СПб. : Наука, 2004. — 250 с.
23. Иванов, К. П. Ошибки эволюции в развитии физиологических функций / К. П. Иванов, Н. Н. Мельникова // Успехи физиол. наук. — 2005. — Т. 36. — № 1. — С. 14–24.
24. Иванов, К. П. Скорость кровотока в капиллярах головного мозга / К. П. Иванов, Ю. И. Левкович, М. К. Калинина // ДАН СССР. — 1977. — Т. 225. — С. 1449–1452.
25. Иванов, К. П. Современные представления о транспорте кислорода в тканях / К. П. Иванов // Успехи физиол. наук. — 2001. — Т. 32. — № 4. — С. 3–22.
26. Иванов, К. П. Физиологическая блокада механизмов холодовой смерти / К. П. Иванов // Успехи физиол. наук. — 2007. — Т. 38. — № 2. — С. 63–74.
27. Иванов, К. П. Энергетические потребности и кислородное обеспечение головного мозга / К. П. Иванов, Ю. Я. Кисляков. — Л. : Наука, 1979. — 214 с.
28. Калинина, М. К. Кровоток в микрососудах скелетной мышцы при нормоксии и артериальной гипоксемии / М. К. Калинина [и др.] // Физиол. журн. СССР. — 1979. — Т. 65. — С. 620–628.
29. Кнорре, Д. А. Естественные условия для запрограммированной гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Д. А. Кнорре, Е. А. Смирнова, Ф. Ф. Северин // Биохимия. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 323–326.
30. Лукьянова, Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия : понятие, механизмы, способы коррекции / Л. Д. Лукьянова // Бюлл. эксп. биол. мед. — 1997. — Т. 124. — № 9. — С. 224–254.
31. Моргалев, Ю. И. Пространственное распределение кровотока и pO_2 в коре головного мозга / Ю. И. Моргалев, И. Т. Демченко // Физиол. журн. СССР. — 1979. — Т. 65. — С. 985–990.
32. Неговский, В. А. Актуальные проблемы реаниматологии / В. А. Неговский. — М. : Медицина, 1971. — 215 с.
33. Новожилова, А. П. Механизмы клеточной смерти : проблемы и перспективы / А. П. Новожилов [и др.] // Программированная клеточная гибель. Гл. 1 / под ред. В. С. Новикова. — СПб. : Наука, 1996. — С. 8–29.
34. Одинак, М. М. Апоптоз в этиологии и патогенезе заболеваний нервной системы / М. М. Одинак [и др.] // Программированная клеточная гибель. Гл. 12 / А. П. Новожилова, Н. Н. Плужников, В. С. Новиков. — СПб. : Наука, 1996. — С. 176–194.
35. Самуилов, В. Д. Проблемы энергетики в эволюции живого / В. Д. Самуилов // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 302–307.
36. Сарис, Н.-Е. Л. Роль митохондрий в перераспределении внутриклеточного кальция / Н.-Е. Л. Сарис, Э. Карафолли // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 231–238.
37. Скулачев, В. П. Попытка биохимиков атаковать проблему старости : обзор / В. П. Скулачев // Биохимия. — 2007. — Т. 72. — № 12. — С. 1700–1714.

38. Скулачев, В. П. Трансформация энергии в биомембранах / В. П. Скулачев. — М. : Наука, 1972. — 200 с.
39. Хоссман, Л.-А. Прекращение мозгового кровообращения и оживление / Л.-А. Хоссман. — М. : Медицина, 1980. — С. 35–49.
40. Черняк, Б. В. Биоэнергетика и смерть / Б. В. Черняк [и др.] // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 294–301.
41. Adams, J. E. Oxygen tension of human cerebral gray and white matter / J. E. Adams, J. W. Severinghaus // J. Neurosurg. — 1962. — Vol. 19. — P. 959–963.
42. Boutilier, R. G. Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia / R. G. Boutilier // J. of experimental Biology. — 2001. — Vol. 204. — P. 31271–3181.
43. Bunn, H. F. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia / H. F. Bunn, R. O. Poyton // Physiol. Rev. — 1996. — Vol. 76. — P. 839–885.
44. Duling, B. R. Measurements of the perivascular pO₂ in the vicinity of pial vessels / B. R. Duling, W. Kushinsky, M. Wahl // Pflugers Arch. — 1979. — Bd. 383. — S. 29–34.
45. Hart, R. Experimental antileukocyte interventions in cerebral ischemia / R. Hart [et al] // J. Cerebral Blood Flow Metab. — 1996. — Vol. 16. — № 6. — P. 1108–1119.
46. Heinrich, U. Oxygen supply of the blood — free perfusion of guinea pig brain / U. Heinrich, J. Hoffman, H. Baumgartle // Adv. Exp. Med. Biol. — 1985. — Vol. 191. — P. 77–84.
47. Hossman, K.-A. Resuscitation of the monkey brain after 1 hour complete ischemia / K.-A. Hossman, V. Zimmerman // Brain Res. — 1974. — Vol. 81. — № 1. — P. 59–74.
48. Hudetz, A. G. Nitric oxide synthase inhibition enhances leukocyte adhesion in pial venules following transient forebrain ischemia in the rat / A. G. Hudetz, J. D. Wood Neuman // J. Cereb. Blood Flow Metabol. — 1997. — Vol. 17. — Suppl. 1. — P. 595.
49. Ivanov, K. P. Blood flow velocity in capillaries of brain and muscles / K. P. Ivanov [et al] // Microvas. Res. — 1981. — Vol. 22. — P. 143–155.
50. Ivanov, K. P. Direct measurement of pO₂ of arterioles, capillaries and venules of the brain / K. P. Ivanov, A. N. Derry, E. P. Vovenko // Pflugers Arch. — 1982. — Vol. 393. — P. 118–120.
51. Ivanov, K. P. Micro circulation velocity changes under hypoxia in brain muscles, liver / K. P. Ivanov [et al] // Microvasc. Res. — 1985. — Vol. 30. — P. 10–18.
52. Kerr, J. F. R. Apoptosis / J. F. R. Kerr, A. Wyllie, A. R. Currie // Br. J. Cancer. — 1972. — Vol. 26. — № 4. — P. 239–257.
53. Leist, V. Apoptosis and energy / V. Leist, P. Nicotera // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1997. — Vol. 236. — P. 1–9.
54. Lipton, P. Ischemic cell death in brain neurons / P. Lipton // Physiological Rev. — 1999. — Vol. 79. — № 4. — P. 1431–1568.
55. Lubbers, D. W. The oxygen pressure field in the brain / D. W. Lubbers // Oxygen transport in blood and tissue / eds by D. Lubbers, G. Thieme. — Verlag, 1968. — P. 21–43.
56. Lubbers, D. W. Tissue oxygen supply / D. W. Lubbers // Oxygen transfer to tissue / eds by A. Kovach. — Budapest : Akad. Kiado, 1981. — P. 3–13.
57. McIlwain, H. Biochemistry and the central nervous system / H. McIlwain. — I & A Churchill LTD, 1959. — 400 p.
58. Opitz, E. Über die Sauerstoffversorgung des Gehirn / E. Opitz, M. Schneider // Ergs. Physiol. — 1950. — Bd. 46. — S. 126–260.
59. Pulsinelli, W. Pathophysiology of acute ischemic stroke / W. Pulsinelli // Lancet. — 1992. Vol. 339. — P. 533–536.
60. Pulsinelli, W. The ischemic penumbra in stroke / W. Pulsinelli // Science American (Science Medicine). — 1995. — Vol. 2. — № 1. — P. 16–27.
61. Renkin, E. M. Control of microcirculation / E. M. Renkin // Handbook of Physiology. — 1984. — Section 2. — Vol. 4. — P. 627–688.
62. Ritter, L. S. Leucocyte Accumulation and hemodynamic changes after stroke / L. S. Ritter [et al] // Stroke. — 2000. — Vol. 31. — P. 1153–1161.
63. Schmidt-Nielsen, K. Animal Physiology / K. Schmidt-Nielsen // Cambridge. Univer. Press. — 1982. — Vol. 1. — P. 400.
64. Siesjo, B. K. Brain energy metabolism / B. K. Siesjo. — 1978. — 400 p.
65. Siesjo, B. K. Pathophysiology and treatment of local cerebral ischemia / B. K. Siesjo // J. Neurosurg. — 1992. — Vol. 77. — P. 337–354.
66. Sobotka, P. Electrophysiological and metabolical criteria of maximal tolerance of the brain to complete normotermic ischemia / P. Sobotka // Материалы междуна-род. симп. «Постреанимационная патология мозга». — М. : Медицина, 1978. — С. 171–173.
67. Zhu, H. How do cells sense oxygen / H. Zhu // Science. — 2001. — Vol. 292. — P. 449–451.
68. Zweifach, B. W. General principles governing the behavior of the microcirculation / B. W. Zweifach // Am. J. Med. — 1957. — Vol. 23. — P. 684–695.