

Х.А. РАСУЛОВА

Ташкентский Педиатрический медицинский институт, Узбекистан

**ВЛИЯНИЕ ХОЛИНА АЛЬФОСЦЕРАТ НА МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ХОЛИНЭРГИЧЕСКОЙ ТРАНСМИССИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПОДТИПАХ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА**

На основании биохимических анализов было выявлено, что при ишемическом инсульте (ИИ) в острейшем и остром периоде отмечается выраженное снижение уровня оксида азота (NO), свидетельствующее об эндотелиальной дисфункции, и снижение уровня ацетилхолинэстеразы (АХЭ), косвенно свидетельствующее о дефиците холинэргической нейромедиации, особенно выраженное при кардиоэмболическом и лакунарном подтипах. Раннее назначение холинэргического нейропротектора холина альфосцерат (глиатилин) в комплексную терапию ИИ способствует улучшению синаптической холинэргической нейротрансмиссии, эндотелиальной дисфункции, что может проявляться улучшением реперфузии и восстановлением утраченных функций головного мозга. Глиатилин стимулирует синтез ацетилхолина, который, в свою очередь, запускает активность eNOS и выработку NO.

**Ключевые слова:** ишемический инсульт, патогенетические подтипы, оксид азота, ацетилхолинэстераза, холина альфосцерат.

**Введение.** Проблема лечения больных с ишемическим инсультом (ИИ) остается одной из наиболее актуальных и сложных в медицинской науке и практике, что обусловлено большой распространенностью, высокими уровнями инвалидизации и летальности при данном заболевании. Современная стратегия дифференцированного лечения ИИ базируется на ранней диагностике его патогенетического подтипа. Для практического врача острым остается вопрос ранней нейропротекции, подразумевающей комплекс мероприятий, направленных на предотвращение или ослабление развития основных звеньев патобиохимического каскада, приводящих к обратимым метаболическим изменениям нейронов или к их гибели [5,8,10].

С целью метаболической защиты головного мозга при острой сосудистой патологии применяются препараты различных фармакологических групп – блокаторы кальциевых каналов, антиоксиданты, ноотропы, средства, уменьшающие интенсивность свободнорадикального и перекисного окисления липидов, тормозные нейромедиаторы, аминокислотные ноотропы, актопротекторы и другие. Однако, большинство препаратов имеют дополнительные нежелательные фармакологические свойства, затрудняющие безопасное применение в остром периоде заболевания, а их метаболическая активность не всегда достаточна и не вполне обоснована, что объясняет отсутствие единства назначения разовых и курсовых доз. Нельзя также забывать о том, что подход к выбору препаратов нейрометаболической защиты должен быть не только своевременным, но и дифференцированным.

Афанасьевым В.В. (2000) предложены клинические маркеры (критерии) для назначения метаболических средств – «выход» из комы, выполнение команд, стабилизация неврологического статуса, а препаратами выбора – вещества, действующие на тропотропные рецепторные системы. Больше всего этим критериям отвечают холинотропные препараты, что объясняется следующим [1,5]:

- холинореактивные системы эволюционно приспособлены работать в противодействии с адренэргическими и способны защитить нейроны от избыточных и разрушительных действий катехоламинов, то есть обладают трофогенными, преимущественно саногенетическими, свойствами;
- холинэргические факторы дифференцировки нейронов осуществляют роль нейропозитивов для нервных клеток головного мозга и способны выполнять модулирующую роль;
- постсинаптические рецепторы нейронов холинэргических систем способны оказывать метаболическое воздействие;
- метаболиты ацетилхолина входят в состав клеточных мембран и обеспечивают их матричные функции;
- холинэргические средства не изменяют системной гемодинамики, усиливают перистальтику и способны повышать кислородную ёмкость крови.

Медиатор ацетилхолин представлен в нервной системе широко, основное его местонахождение – базальные ганглии, таламус, серое вещество полушарий, хвостатое ядро, ядра моста (мускариновые рецепторы), передние рога боковых желудочков, вегетативные образования (никотиновые рецепторы). Учитывая биохимию головного мозга, в которой ацетилхолин имеет широкое представительство, есть основания полагать, что этот медиатор обеспечивает сложные двигательные функции – инициацию движения, двигательные стереотипы. Холинэргическая система, тесно взаимодействуя с дофамин-, глутамат- и ГАМК-эргическими медиаторными системами, обеспечивает спонтанную активность, эмоциональное поведение, память и волевые акты. В связи с этим, воздействие на холинэргическую систему ЦНС всегда представлялось одной из самых важных терапевтических задач. Но отсутствие оптимальных форм, проникающих через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), затрудняло применение холинотропных средств из-за низкой управляемости холиномимитических эффектов [2,5,6].

Препарат холина альфосцерат (глиатилин производства «Италфармако», Италия) является уникальным соединением, в структурной форме которого содержится 40,5% метаболически защищенного холина. Препарат свободно проходит через ГЭБ и служит прямым донором нейротрансмиттера ацетилхолина в пресинаптических мембранах холинэргических нейронов. Являясь также структурным предшественником мембранных фосфолипидов, препарат положительно влияет на функциональное состояние микроструктур клеток, улучшая цитоскелет нейронов, увеличивая массу митохондрий и рибосом, нормализует передачу нервных импульсов, потенцирует анаболические процессы в нейронах, ответственных за мембранный фосфолипидный и глицеролипидный синтез, улучшая состояние когнитивных и поведенческих функций. Его важным преимуществом, по сравнению с другими пресинаптическими холинотропными средствами, является прямое сохранение, возможно, увеличение и депонирование эндогенного пула ацетилхолина, миелинов и фосфолипидов, что объясняет его слабое влияние на чувствительность синапса (не снижает ее). Значительная терапевтическая широта препарата дает возможность назначать его, при необходимости, длительно и в больших дозах, при острой церебральной патологии (инсультах, травмах головы), различных экстрапирамидных нарушениях, энцефалопатиях с выраженными интеллектуально-мнестическими, психоорганическими, эмоционально-поведенческими и двигательными нарушениями, постнаркотической энцефалопатии, прогрессирующей деменции, нейродегенеративных заболеваниях, малой мозговой дисфункции у детей, глубоких нарушениях сознания и необходимости скорейшего его восстановления [5,6].

**Цель исследования** – изучить влияние холина альфосцерат на маркеры эндотелиальной дисфункции и холинэргической трансмиссии при различных подтипах ИИ.

**Материал и методы исследования.**

**Дизайн исследования**

Было обследовано 100 больных ИИ – 57 мужчин и 43 женщины (средний возраст – 62,63±4,68 лет). Основное число больных поступили в 1<sup>ый</sup> день – 64, из них до 3 часов – 30, до 6 часов – 25, до 24 часов – 9, на 2<sup>ой</sup> день до 5 суток поступили – 26 и после 5<sup>ых</sup> суток – 10 больных. Выраженность неврологического дефицита и степень тяжести ИИ оценивались по Оригинальной шкале инсульта. Для определения подтипа ИИ использовались критерии TOAST [9], Верещагина Н.В., Суслиной З.А. (2005), метод компьютерной программы для определения вероятностей подтипов ИИ, разработанный Национальным центром инсульта НИИ

неврологии РАМН в 2004 году [7], на основании которых были сформированы 3 группы больных в зависимости от патогенетического подтипа ИИ:

1 группа – 42 больных с атеротромботическим инсультом (АТИ);

2 группа – 41 больной с лакунарным инсультом (ЛИ);

3 группа – 17 больных с кардиоэмболическим инсультом (КЭИ).

Методом простой рандомизации все больные ИИ были разделены на две группы: основная группа (n=60) – больные, получавшие в составе комплексной терапии глиатилин, контрольная (n=50) – традиционную терапию без глиатилина. Глиатилин назначался сразу после поступления больных в дозировке 1000 мг (4,0 мл) внутривенно капельно или струйно в физиологическом растворе ежедневно в течение 6-10 дней. Далее больные переходили на пероральный прием по 400 мг (1 капсула) два раза в день в течение 1-3 месяцев. В зависимости от тяжести состояния больных суточная доза препарата достигала 4000 мг в сутки (по 2 ампулы два раза в день). Проведение активной дифференцированной гимнастики начиналось, по возможности и показаниям, на 1-2 сутки. Если уровень сознания не позволял продуктивно общаться с больными, то занятия проводились в пассивном режиме. По показаниям проводился массаж пораженных конечностей.

#### Биохимические исследования

О состоянии эндотелиальной функции судили по содержанию NO, уровень которого определяли по сумме метаболитов нитратов и нитритов (NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) с использованием реактива Grees модифицированным методом [4]. Изучение холинэргической системы проводилось по содержанию фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) спектрофотометрически по методу Камышникова В.С. [3]. Материалом для биохимических исследований была отобранная и замороженная сыворотка крови, которую брали на 1-3 сутки поступления больных в клинику и после выписки. Результаты биохимических исследований сравнивали с данными контрольной группы, которую составили 20 лиц без инсульта и тяжелой сопутствующей патологии: 8 мужчин (40%) и 12 женщин (60%) (средний возраст – 59,75±3,08 лет).

#### Статистические исследования

Статистическую обработку полученных результатов проводили на компьютере IBM PC при помощи программы «Microsoft Excel» с расчетом средней арифметической величины (M), ошибки средней арифметической величины (m), коэффициента линейной корреляции (r), t-критерия Стьюдента-Фишера в программной среде StatSoft, Inc. (2003) при проверке нормальности распределения STATISTICA (data analysis software system), version 6. Достоверным считали различие сравниваемых величин при значении p<0,05.

Таблица 1 - Сравнительная характеристика продуктов NO и уровня АХЭ при подтипах ИИ на фоне лечения, M±m.

Подтип ИИ	Группа лечения	NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	P <sub>к</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	АХЭ, ммоль/л	P <sub>к</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	r
АТИ	Основная группа (n=31)	<u>14,46±0,39</u> 18,0±0,42	<u>≤ 0,001</u> < 0,01	< 0,001	< 0,001	<u>82,0±1,22</u> 93,6±1,53	<u>&lt; 0,01</u> < 0,5	< 0,05	< 0,05	<u>0,68</u> 0,44
	Группа сравнения (n=10)	<u>14,40±0,63</u> 15,29±0,57	<u>≤ 0,001</u> < 0,001	< 0,05		<u>78,5±2,64</u> 89,14±2,81	<u>≤ 0,002</u> < 0,5	< 0,01		<u>0,85</u> 0,86
ЛИ	Основная группа (n=29)	<u>14,00±0,35</u> 17,07±0,47	<u>≤ 0,001</u> < 0,002	< 0,001	< 0,01	<u>79,69±1,34</u> 91,2±1,61	<u>≤ 0,002</u> < 0,05	< 0,01	< 0,5	<u>0,72</u> 0,69
	Группа сравнения (n=16)	<u>14,5±0,6</u> 15,51±0,44	<u>≤ 0,001</u> < 0,001	< 0,05		<u>80,41±1,95</u> 90,80±2,28	<u>&lt; 0,01</u> < 0,5	< 0,05		<u>0,77</u> 0,79
КЭИ	Основная группа (n=10)	<u>13,20±1,02</u> 16,70±1,19	<u>≤ 0,001</u> < 0,001	< 0,002	< 0,02	<u>68,5±2,26</u> 83,3±2,55	<u>≤ 0,002</u> < 0,5	< 0,05	< 0,5	<u>0,79</u> 0,61
	Группа сравнения (n=7)	<u>12,17±0,83</u> 14,0±0,56	<u>≤ 0,001</u> < 0,001	< 0,01		<u>71,3±2,31</u> 79,1±3,04	<u>≤ 0,001</u> < 0,25	< 0,05		<u>0,77</u> 0,94
Контрольная группа (n=20)		22,14±0,61	< 0,001	-	-	100,1±1,76	-	-	-	0,025

**Примечание 1:** в числителе – до лечения, в знаменателе – после лечения.

**Примечание 2:** P<sub>к</sub> – значения достоверны по отношению к контролю;

P<sub>1</sub> – достоверность значений до и после лечения в группах;

P<sub>2</sub> – достоверность значений в группах после лечения;

r – коэффициент корреляции.

#### Результаты и обсуждение.

Результаты биохимических исследований показали, что у больных ИИ содержание NO до лечения было снижено в целом на 60%, по сравнению с контролем (22,14±0,61 мкмоль/л), причем при всех подтипах, что указывало на эндотелиальную дисфункцию, особенно при ЛИ и КЭИ. На фоне лечения в основной группе уровень NO увеличился на 16% при АТИ (14,46±0,39 мкмоль/л до и 18,0±0,42 мкмоль/л после лечения; p<0,001), что превышало значения группы сравнения на 12,2%. При ЛИ содержание NO увеличилось на 13,9% (14,00±0,35 мкмоль/л против 17,07±0,47 мкмоль/л; p<0,001), и при КЭИ на 15,8% (13,20±1,02 мкмоль/л против 16,70±1,19 мкмоль/л; p<0,002), превысив значения сравниваемой группы на 7,1% и 12,2% соответственно. По сравнению с контролем уровень NO в основной группе составил разницу 18,7% при АТИ, 22,9% при ЛИ, 24,6% при КЭИ. Видимо, несмотря на выраженную клиническую эффективность препарата при КЭИ и ЛИ, эндотелиальная дисфункция хотя и улучшается, по сравнению

с традиционной терапией, однако, все еще не достигает контрольных значений, особенно на фоне сочетания сердечной патологии и артериальной гипертензии, чем при атеросклерозе (табл.).

Как видно из таблицы, уровень АХЭ увеличился на фоне лечения глиатилином на 11,6% при АТИ ( $82,0 \pm 1,22$  ммоль/л до и  $93,6 \pm 1,53$  ммоль/л после лечения;  $p < 0,05$ ), что превышало значения группы сравнения на 4,5% и было ниже контроля на 6,4%. При ЛИ уровень АХЭ в основной группе увеличился на 12,1% ( $79,69 \pm 1,34$  мкмоль/л против  $91,2 \pm 1,61$  мкмоль/л;  $p < 0,01$ ), и при КЭИ на 24,8% ( $68,5 \pm 2,26$  мкмоль/л против  $83,3 \pm 2,55$  мкмоль/л;  $p < 0,05$ ), превысив значения сравниваемой группы на 10,8% и 4,2%, сохраняясь ниже контрольных значений на 8,8% и 6,7% соответственно.

Таким образом, глиатилин, способствуя синтезу ацетилхолина, улучшает холинэргическую нейромедиацию при остром ИИ, но наиболее выражено при КЭИ и ЛИ, что выражается в более выраженной клинической эффективности препарата при данных подтипах ИИ, чем при АТИ.

Корреляционный анализ выявил прямую слабую связь между содержанием NO и АХЭ в основной группе и прямую сильную – в группе сравнения при всех подтипах ИИ (таблица). Безусловно, на эндотелиальную дисфункцию, кроме холинэргической нейромедиации, влияют и другие механизмы, возможно тяжелая длительно текущая гипертоническая болезнь и сердечная патология.

**Заключение.** Таким образом, при ИИ в острейшем и остром периоде отмечается выраженное снижение NO, свидетельствующее об эндотелиальной дисфункции, и снижение уровня АХЭ, косвенно свидетельствующее о дефиците холинэргической нейромедиации, особенно выраженные при КЭИ и ЛИ. Раннее назначение холинэргического нейропротектора холина альфосцерат (глиатилин) в комплексную терапию ИИ способствует улучшению синаптической холинэргической нейротрансмиссии, эндотелиальной дисфункции, что может проявляться реперфузией и восстановлением утраченных функций головного мозга. Глиатилин стимулирует синтез ацетилхолина, который, в свою очередь, запускает активность eNOS и выработку NO.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Афанасьев В.В. Ноотропы в остром периоде черепно-мозговой травмы да или нет?: (Взгляд с позиций клинич. фармаколога) // Матер. VII Всерос. съезда анестезиологов и реаниматологов. – СПб., 2000. – С. 15.
- 2 Исмагилов М.Ф., Василевкая О.В., Гайфутдинов Р.Т. и др. Оценка эффективности церетона в остром периоде ишемического инсульта // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2009. – Т. 109, № 3. – С. 54-55.
- 3 Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2-х т. – Т. I. – Мн.: Беларусь, 2002. – С. 466-476.
- 4 Комарин А.С., Азимов Р.К. Патофизиология обмена монооксида азота: Метод. рекомендации. – Т., 2005. – 29 с.
- 5 Одинак М.М., Вознюк И.А. Новое в терапии при острой и хронической патологии нервной системы: (нейрометаболическая терапия при патологии нервной системы). – СПб.: ВМедА, 2001. – 63 с.
- 6 Сергеев О.В. Эффективность применения цитофлавина и глиатилина в терапии больных ишемическим инсультом // Забайкал. мед. вестн. – 2005. – № 1. – С. 7-13.
- 7 Суслина З.А., Варакин Ю.А., Верещагин Н.В. Сосудистые заболевания головного мозга: Эпидемиология. Патогенетические механизмы. Профилактика – 2-е изд., доп. и перераб. – М.: Медпресс-информ, 2009. – 352 с.
- 8 Федин А.И., Румянцева С.А. Интенсивная терапия ишемического инсульта. – М.: Мед. книга, 2004. – 284 с.
- 9 Adams H.P., Bendixen B.H., Kappelle L.J. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke: definitions for use in a multicenter clinical trial // Stroke. – 1993. – № 24. – P. 35-41.
- 10 Ladurner G., Kalvach P., Gmeibauer R. et al. Neuroprotection in acute ischemic stroke // Stroke. – 2001. – № 32. – P. 323.

#### Х.А. РАСУЛОВА

##### ИШЕМИЯЛЫҚ ИНСУЛЬТТИҢ ТҮРЛІ ТОПТАРҒА БӨЛІНЕДІ ДЕ ЭНДОТЕЛИЙ ДИСФУНКЦИЯСЫ ЖӘНЕ ХОЛИНЭРГИЧЕСКИЕ БЕРУ МАРКЕРЛЕР ЭСЕРІ ХОЛИН АЛФОСТЕРАТ

**Түйін:** Биохимиялық негізінде эндотелий дисфункциясы көрсете отырып, (NO) азот тотығының елеулі қысқарту өткір және өткір кезеңде ишемиялық инсульт (ИИ) тауып, бұл және холинэргические тапшылығы neuromediation жанама дәлелдемелер ацетилхолинэстераза (АХЭ) азайды, әсіресе кардиоэмболикалық және лакунарлық подтиптер білдірді. АИ кешенді терапия холинэргические нейропротекторлы холин альфосцерат (глиатилин) ерте әкімшілігі жақсартылған реперфузия көрсетеді және мидың жоғалған функцияларын қалпына келтіру мүмкін синаптикалық холинэргетик нейротрансмиссиясы, эндотелий дисфункциясы, жақсартады. Глиатилин өз кезегінде eNOS NO өндіру және қызметін триггерлер ацетилхолин синтезін ынталандырады.

**Түйінді сөздер:** ишемиялық инсульттің, патогенді кіші, азот оксиді, ацетилхолинэстераза, холин альфосцерат.

#### H.A. RASULOVA

##### INFLUENCE IF CHOLINE ALFOSCERATE ON MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND CHOLINERGIC TRANSMISSION IN DIFFERENT SUBTYPES OF ISCHEMIC STROKE

**Resume:** Biochemical studies found that in ischemic stroke (IS) in acutest and acute period marked reduction in nitric oxide (NO), indicating endothelial dysfunction, and decreased acetylcholinesterase (ACE) level, an indirect evidence of cholinergic neuromediation deficit, especially expressed in the cardioembolic and lacunar subtypes. Early administration of cholinergic neuroprotector choline alfoscerate (gliatilin) in the complex therapy for IS improves synaptic cholinergic neurotransmission, endothelial dysfunction, which may exhibit improved reperfusion and restore lost functions of the brain. Gliatilin stimulates the synthesis of acetylcholine, which in turn triggers eNOS activity and NO production.

**Keywords:** ischemic stroke, pathogenic subtypes, nitric oxide, acetylcholinesterase, choline alfoscerate.