

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/303023995>

Нейропротективное действие глицина в остром периоде ишемического инсульта

Article · February 1999

CITATIONS

0

READS

256

10 authors, including:



[Vladimir Sergeevitch Kudrin](#)

Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

360 PUBLICATIONS 2,088 CITATIONS

SEE PROFILE

Нейропротективное действие глицина в остром периоде ишемического инсульта

Е.И. ГУСЕВ, В.И. СКВОРЦОВА, И.А. КОМИССАРОВА, С.А. ДАМБИНОВА, К.С. РАЕВСКИЙ, А.А. АЛЕКСЕЕВ, В.Г. БАШКАТОВА, А.В. КОВАЛЕНКО, В.С. КУДРИН, Е.В. ЯКОВЛЕВА

Neuroprotective effect of glycine in the acute period of ischemic stroke

E.I. GUSEV, V.I. SKVORTSOVA, I.A. KOMISSAROVA, S.A. DAMBINOVA, K.S. RAEVSKY, A.A. ALEKSEEV, V.G. BASHKATOVA, A.V. KOVALENKO, V.S. KUDRIN, E.V. YAKOVLEVA

Кафедры неврологии и нейрохирургии N 1 и 2 Российского государственного медицинского университета, НИИ фармакологии РАМН, НИИ мозга человека РАН, МНПК «Биотики», Москва

С целью изучения эффективности глицина в остром периоде полушарного ишемического инсульта и механизмов его действия проведено двойное слепое плацебо-контролируемое исследование у 200 больных. Для объективизации тяжести их состояния и оценки выраженности неврологического дефицита использовали шкалы Оргогозо и Скандинавскую, для оценки функционального восстановления — шкалу Бартеля. Исследовались уровни аутоантител к структурному компоненту глутаматных *NMDA*-рецепторов в сыворотке крови и концентрации нейротрансмиттерных аминокислот и продуктов перекисного окисления липидов в цереброспинальной жидкости. Выявлена высокая эффективность глицина в суточной дозе 1—2 г в день при его сублингвальной применении с первых 6 ч от момента развития инсульта в течение 5 дней. Установлено многокомпонентное нейропротективное действие глицина, направленное на устранение дисбаланса между возбуждающими и тормозными аминоксидергическими медиаторами, уменьшение эксайтотоксичности и процессов оксидантного стресса.

Both the efficiency of glycine in the acute period of hemispheric ischemic stroke and mechanisms of its action were studied in a double blind placebo-controlled trial including 200 patients. Orgogozo's and Scandinavian scales for objective assessment of the condition severity and of a degree of neurologic deficiency, and Bartel's scale — for evaluation of functional recovery were used and measurements were made of the levels of autoantibodies to the structural component of glutamate *NMDA*-receptors in blood serum and concentrations of neurotransmitter amino acids and of the products of lipid peroxidation in cerebrospinal fluid. Sublingual glycine application in daily dose of 1—2 g was found effective beginning with the first 6 hours of the stroke development during 5 days. Multicomponent neuroprotective action of glycine was established directed at correction of the unbalance between stimulating and inhibiting aminacidergic neurotransmitters, as well as at a decrease of excitotoxicity and oxidant stress.

Углубление представлений о патогенезе ишемического инсульта, механизмах повреждения нервной ткани при острой церебральной ишемии создало предпосылки для разработки новых направлений нейропротективной терапии острого ишемического инсульта [14—16, 34, 43, 45]. Установлена важная роль в развитии ишемического повреждения мозга эксайтотоксичности (от англ. excite — возбуждать), обусловленной дисбалансом между возбуждающими и тормозными нейротрансмиттерными системами. В этой связи с особым интересом обсуждается участие тормозного аминоксидергического медиатора глицина в механизмах патофизиохимических каскадов, ведущих к развитию инфаркта мозга на фоне еще обратимой ишемии. С одной стороны, в экспериментах доказано, что глицин в субмикромольных концентрациях необходим для нормального функционирования глутаматных *N*-метил-*D*-аспартат-рецепторов (*NMDA*-рецепторов). Активация последних возможна лишь при условии связывания глицина с их специфическими (нечувствительными к стрихнину) глициновыми локусами (сайтами), т.е. глицин является коагонистом *NMDA*-рецепторов [19, 21, 23, 24, 36]. Это позволило исследователям в целях разработки эффективных направле-

ний нейропротективной терапии использовать селективную блокаду глутаматных рецепторов с помощью антагонистов глицинового локуса. Некоторые антагонисты в эксперименте продемонстрировали терапевтический эффект при острой фокальной церебральной ишемии, эпилепсии и других состояниях, сопровождающихся глутаматергической гиперактивностью [5—7, 10, 27, 40, 50]. С другой стороны, установлено, что в нормальных условиях *in vivo* обычные концентрации эндогенного глицина полностью связывают участки глутаматных рецепторов [21, 23]. Обнаружено, что потенцирующее действие глицина на *NMDA*-рецепторы проявляется в концентрациях ниже 0,1 мкмоль, а концентрации от 10 до 100 мкмоль полностью насыщают глициновый локус [9]. Введение высоких концентраций глицина (100 мкмоль и 1 ммоль) крысам в условиях недостатка кислорода не вызвало длительной модуляции активности *NMDA*-рецепторов в гиппокампе [22]. Применение встроенных электродов с использованием микродиализа [31] подтвердило, что повышенные концентрации глицина, которые имеют место при ишемии (10—100 ммоль), не активируют вызванную *NMDA* деполяризацию *in vivo* и, следовательно, не увеличивают эксайтотоксичность [32].

В то же время известно, что глицин проявляет свои ингибирующие свойства посредством взаимодействия с глициновыми рецепторами и рецепторами ГАМК [13, 20, 29].

Интересно, что введение животным глицина в высоких дозах и некоторых его агонистов (1-амино-1-карбоксициклопропана, который является почти полным агонистом, и *D*-циклосерина, который обладает 40–60% эффективности глицина) оказывает противосудорожное действие [26, 37, 39, 44, 46–49]. Более того, глицин и *D*-циклосерин усиливали действие противосудорожных средств, в то время как *L*-циклосерин был неэффективен [38]. Данные результаты были бы невозможны, если бы основным механизмом действия глицина являлась активация глутаматергических систем.

Наряду с нейротрансмиссивным глицин вызывает обменные эффекты, связывает низкомолекулярные токсичные соединения (альдегиды, кетоны), в больших количествах образующиеся в процессе ишемии [3, 30, 51]. В эксперименте с фокальной ишемией переднего мозга у крыс введение глицина в дозе 20 мг/кг (в течение первых 2 ч после операции и далее однократно на протяжении 9 дней) сопровождалось значительным повышением его концентрации в ткани мозга (в стриатуме на 63%, в парietальной коре на 45%), достоверно увеличивало по сравнению с контролем скорость оборота ГАМК как в зоне ишемии, так и в окружающей ткани [12]. Одновременно в зоне ишемии отмечалось значимое снижение концентраций продуктов оксидантного стресса [4, 41]. Выявленные эффекты глицина сопровождалась быстрой нормализацией у крыс поведения и условных рефлексов (сопоставимо с группой ложнооперированных животных).

В экспериментах доказано эффективное действие глицина через рецепторные зоны. Спустя 10 мин после нанесения глицина, меченного тритием (³H-глицин), на конъюнктиву глаза, интраназально, на слизистую оболочку щеки при сцинтилляционной спектрометрии отмечалось его повышенное потребление в различных мозговых структурах и спинномозговой жидкости [1, 4]. Нанесение глицина на конъюнктиву сопровождалось увеличением его концентрации до максимальной в первые 30 мин в зрительном перекресте и через 2 ч в зрительной зоне коры [1].

Фармацевтический препарат глицин был создан в лаборатории регуляторов обмена веществ Медицинского научно-производственного комплекса «Биотики» (Россия). Его основным действующим веществом является аминокислота глицин, фармацевтическим носителем — метилцеллюлоза (0,5–2,0 мас. %). В ранних исследованиях было показано, что препарат глицин в суточных дозах 300–600 мг вызывает антистрессовые и ноотропные эффекты [25].

Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности глицина и механизмов его нейропротективного действия в остром периоде ишемического инсульта.

Больных включали в исследование исходя из следующих критериев: клинический диагноз острого ишемического инсульта в каротидной системе; возрастной диапазон 45–75 лет; ясное сознание или умеренные расстройства сознания до уровня сопора (по шкале Оргогозо балл нарушения сознания выше 15); начало лечебных мероприятий в течение первых 6 ч заболевания. Из исследования были исключены пациенты с повторными инсультами и остаточными явлениями острых нарушений мозгового кровообращения, страдающие другими неврологическими заболеваниями. Дополнительными критериями исключения были внезапная остановка сердца, острый инфаркт миокарда (в течение предшествующих инсульту 6 нед), атриовентрикулярная блокада II–III степени.

В течение первых 6 ч от начала инсульта пациентам рандомизированно и вслепую назначались суб-

лингвально плацебо или глицин в одной из трех доз — 0,5, 1 или 2 г в день в течение 5 дней. Другие препараты с нейропротективными эффектами (ноотропы, блокаторы кальциевых каналов, низкомолекулярные пептиды, ганглиозиды) в исследовании не использовались. Базисная терапия включала гемодилюцию, прием аспирина, низких доз гепарина (при необходимости) и осмотических диуретиков (также при необходимости).

Базисная оценка состояния больных основывалась на заполнении формализованной истории болезни по результатам общего и неврологического осмотра, данным ЭКГ, клинических и биохимических анализов крови и спинномозговой жидкости, компьютерной томографии головного мозга. Для объективизации тяжести состояния больных и выраженности неврологического дефицита были использованы Скандинавская шкала [42] и шкала Оргогозо [35]; исход функционального восстановления оценивался по шкале Бартеля [17, 28]. Количество баллов в шкалах Скандинавской и Оргогозо имеет амплитуду от 0 (смерть больного) соответственно до 60 и 100 (отсутствие изменений неврологического статуса). На основании исходного суммарного балла по шкале Оргогозо все пациенты были разделены на группы по тяжести ишемического инсульта: 65 баллов и выше соответствовали наиболее «мягкому» течению инсульта, от 64 до 41 балла — течению средней тяжести, от 40 до 26 баллов — тяжелому, 25 и менее — крайне тяжелому. Начальное разделение больных на группы сохранялось на протяжении всего исследования, и балльная оценка по другим шкалам проводилась внутри этих групп. Больные, умершие в течение первых 30 дней заболевания, были включены в анализ. Для оценки функционального статуса больного использовался индекс Бартеля: колебания от 0 до 45 баллов объективизировали тяжелую инвалидизацию (значительное ограничение или полное нарушение неврологических функций), от 50 до 70 баллов — умеренную инвалидизацию (умеренное ограничение неврологических функций), от 75 до 100 баллов — минимальное ограничение или сохранение неврологических функций [17].

Мониторирование артериального давления, частоты сердечных сокращений и ЭКГ проводили в течение первых 6–12 ч инсульта и на 3, 5, 7, 14, 21 и 30-е сутки. Балльную оценку неврологического статуса осуществляли при поступлении пациента в клинику, по окончании лечения глицином (6-е сутки) и в конце исследования (30-е сутки). Функциональное состояние больного определяли по шкале Бартеля на 30-е сутки. Лабораторные исследования сыворотки крови (содержание аутоантител к глутаматным *NMDA*-рецепторам) проводили при поступлении больного и повторно в первые 6, 9, 12 и 24 ч, на 3, 5 и 21-е сутки после развития ишемического инсульта. Исследования спинномозговой жидкости (определение концентраций глутамата, аспартата, глицина, ГАМК и вторичных продуктов перекисного окисления липидов — ПОЛ) выполняли в течение первых 6 ч инсульта, перед назначением глицина, и повторно на 3-и сутки. Осложнений, связанных с проведением люмбальной пункции, не наблюдалось. Безопасность применения препарата контролировалась специально созданным комитетом, который анализировал все случаи смерти и возникновения побочных эффектов.

Содержание аутоантител к фенциклидинсвязывающему белку глутаматных *NMDA*-рецепторов в сыворотке крови исследовали по методике, разработанной в НИИ мозга человека РАН, С.А. Дамбиновой [11]. Она основана на иммуноферментном количественном анализе содержания в

сыворотке крови аутоантител к основному структурному компоненту глутаматных *NMDA*-рецепторов — фенциклидинсвязывающему белку, выделенному из ткани головного мозга человека. Нормативный титр аутоантител, установленный на основании исследования 200 здоровых испытуемых в возрасте от 35 до 75 лет, составил 0,3–1,5 нг/мл, что, по-видимому, отражает наличие фонового уровня обновления глутаматных рецепторов в рамках общих репаративных процессов в организме [11].

Определение в спинномозговой жидкости уровней глутамата, аспартата, глицина и ГАМК проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией, продуктов (ПОЛ) — путем измерения тиобарбитуровых кислотных реактивов (TRABS) по Н. Ohkawa и соавт. [33].

В предшествующих исследованиях нами были определены концентрации аминокислот и вторичных продуктов ПОЛ в спинномозговой жидкости у 20 пациентов без неврологической симптоматики при проведении перидуральной анестезии. Полученные значения использованы в настоящем исследовании как контрольные (норма). Контрольные значения уровней аминокислот (в мкмоль/л) составили: аспартата — $1,22 \pm 0,21$, глутамата — $4,48 \pm 0,74$, глицина — $15,15 \pm 1,4$, ГАМК — $0,97 \pm 0,34$; вторичных продуктов ПОЛ — $2,42 \pm 0,7$ нмоль/л.

При статистическом анализе демографические и базисные характеристики были сопоставлены с данными теста Cohran — Mantel — Haenszel для показателей категории (пол) и теста ANOVA для изменяющихся показателей (возраст). Типовой *t*-тест был использован для гемодинамических показателей с целью оценки отклонений в сравнении с базисными значениями.

Первичный анализ эффективности глицина был проведен у всех пациентов с ишемическим инсультом, которые были включены в исследование в соответствии с критериями включения и исключения. Для исследования были использованы описательная статистика и частотные распределения. Критерий Уилкоксона использовался для определения значимых различий связанных переменных, *U*-тест Манна — Уитни — для несвязанных переменных. Динамика биохимических параметров оценивалась по тес-

ту ANOVA. Показатели летальности и нетрудоспособности (по шкале Бартеля) сравнивались с результатами теста Фишера.

Клиническая оценка подгрупп больных, в которых применялся препарат глицин, не обнаружила существенных различий в клинической динамике между подгруппами пациентов, получавших глицин в дозах 1 и 2 г/л. Это позволило проводить анализ биохимических параметров в двух группах — с применением глицина в дозах 0,5 и 1–2 г/сут (post hoc-анализ) (см. табл. 5–7).

Различие между показателями признавалось существенным при 5% уровне во всех проведенных сравнениях.

Обследовали 200 больных (110 мужчин и 90 женщин, средний возраст $63,7 \pm 10,1$ года), поступивших в клинику в течение первых 6 ч с момента развития полушарного ишемического инсульта. У 115 из них диагностировано острое нарушение мозгового кровообращения в системе левой и у 85 — правой внутренней сонной артерии. По этиологическим факторам, особенностям дебюта заболевания, срокам госпитализации, возрастному и половому составу анализируемые группы были сопоставимы (табл. 1).

Анализ результатов исследования показал, что в группе больных, получавших глицин в дозе 1 г/сут, достигнуто значимое ($p < 0,05$) снижение летальности при сравнении с группой плацебо. Аналогичная, но менее выраженная тенденция отмечена и в группе пациентов, получавших глицин в дозе 2 г/сут (табл. 2). Необходимо отметить, что в группах с применением глицина в дозах 1 и 2 г/сут из 8 умерших у 6 смерть наступила внезапно на фоне общего улучшения состояния по причине тромбоэмболии легочной артерии (3 случая) и острой сердечной недостаточности (3 случая). Среди пациентов с прогрессирующим течением инсульта, неуклонным нарастанием неврологического дефицита на фоне приема глицина в дозах 1 и 2 г/сут летальность составила 2,0%, тогда как в группах

Таблица 1. Демографические и исходные клинические характеристики 200 больных острым ишемическим инсультом, включенных в исследование

Показатель	Плацебо <i>n</i> = 50	Глицин		
		0,5 г/сут <i>n</i> = 49	1 г/сут <i>n</i> = 51	2 г/сут <i>n</i> = 50
Пол (м/ж)	28/22	25/24	27/24	30/20
Средний возраст, годы	$65,1 \pm 9,5$	$64,5 \pm 10,5$	$67,3 \pm 8,7$	$66,7 \pm 9,7$
Соотношение числа пациентов с поражением левого/правого полушарий	32/18	28/21	28/23	27/23
Срок с момента инсульта до поступления в стационар, ч	$5,5 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,2$	$5,4 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,3$
Средний балл на момент поступления по Оргогозо	$41,24 \pm 2,6$	$41,06 \pm 2,4$	$38,88 \pm 1,9$	$40,9 \pm 2,1$
Количество пациентов с баллом по Оргогозо 40 и менее (тяжелый инсульт)	19 (38%)	20 (40,8%)	21 (41,2%)	20 (40%)
Количество пациентов с баллом по Оргогозо 41–64 (инсульт средней тяжести)	23 (46%)	22 (45%)	23 (45,1%)	24 (48%)
Количество пациентов с баллом по Оргогозо 65 и более (малый инсульт)	8 (16%)	7 (14,2%)	7 (13,7%)	6 (12,0%)
Средний балл при поступлении по Скандинавской шкале	$27,0 \pm 1,4$	$27,1 \pm 1,3$	$26,48 \pm 1,3$	$26,91 \pm 1,2$

Примечание. Достоверных различий между исследованными группами по представленным характеристикам не обнаружено.

Таблица 2. Летальность и причины смерти больных

Показатель	Плацебо	Глицин		
		0,5 г/сут	1 г/сут	2 г/сут
Число умерших:				
в целом по группе	7/50 (14,0%)	7/49 (14,3%)	3/51 (5,9%)*	5/50 (10,0%)
с исходным суммарным клиническим баллом по Оргогозо более 40 (малый инсульт и инсульт средней тяжести)	2/31 (6,5%)	2/29 (6,9%)	0/30 (0%)	1/30 (3,3%)
с исходным суммарным клиническим баллом по Оргогозо 25—39 (тяжелый инсульт)	2/11 (18,2%)	2/12 (16,7%)	1/11 (9,1%)	2/13 (15,4%)
с исходным суммарным клиническим баллом по Оргогозо менее 25 (крайне тяжелый инсульт)	3/8 (37,5%)	3/8 (37,5%)	2/10 (20,0%)	2/7 (28,6%)
Причина смерти:				
отек мозга с развитием вторичного стволового синдрома	5	3	1	1
тромбоэмболия легочной артерии	1	2	1	2
острая сердечная недостаточность	1	1	1	2
повторный инсульт	0	1	0	0

Примечание. * Достоверные различия с контролем ($p < 0,05$).

плацебо и с применением глицина в дозе 0,5 г/сут — 10% (5 из 50) и 6,1% (3 из 49) соответственно.

У 91% (81 из 89) больных с состоянием средней тяжести, получавших глицин, отмечалось регрессирующее течение инсульта со стабильным регрессом неврологической симптоматики, тогда как в аналогичной по тяжести группе плацебо регрессирующее течение наблюдалось лишь в 74,2% случаев (23 из 31).

В группах исходно тяжелобольных, получавших глицин, регресс неврологического дефицита наблюдался в 68,9% случаев (42 из 61), что значительно превышало показатель в группе плацебо (31,5% — 6 из 19). Прогрессирующее течение инсульта среди пациентов, находившихся в тяжелом состоянии, у получавших глицин отмечено в 16,4% случаев (10 из 61), а в группе плацебо — в 42,1% (8 из 19).

Анализ динамики неврологического дефицита свидетельствовал о том, что при применении глицина в дозе 1 и 2 г/сут к 6-м и 3-м суткам заболевания происходил ускоренный регресс неврологических нарушений по сравнению с группой плацебо (табл. 3). Более значимыми различия оказались в группе больных, получавших глицин в дозе 1 г/сут. При применении глицина в дозе 0,5 г/сут тенденция к ускоренному регрессу неврологического дефицита отмечена только у пациентов с состоянием средней тяжести к 30-м суткам заболевания.

Оценка динамики отдельных очаговых симптомов выявила статистически значимое ускорение восстановления двигательных ($p < 0,02—0,03$) и сенсорных ($p < 0,04—0,05$) функций на фоне приема глицина в дозах 1 и 2 г/сут по сравнению с плацебо.

При определении степени восстановления нарушенных неврологических функций отмечено увеличение числа пациентов с хорошим восстановлением (индекс Бартеля выше 70) в группах получавших 1 и 2 г/сут глицина

по сравнению с группой пациентов, получавших глицин в дозе 0,5 г/сут, и группой плацебо (табл. 4). Различия были более выраженными у больных, получавших 1 г глицина в сутки, независимо от исходной тяжести инсульта ($p < 0,05$ по сравнению с аналогичными по тяжести подгруппами плацебо). Наряду с этим отмечалось существенное уменьшение числа случаев тяжелой инвалидизации среди больных, принимавших глицин в дозе 1 г/сут ($p < 0,01$ по сравнению с группой плацебо и $p < 0,05$ по сравнению с группой получавших 0,5 г/сут глицина) и в дозе 2 г/сут ($p < 0,05$ по сравнению с теми же группами).

Проведенный в первые 6 ч (перед введением глицина) иммуноферментный анализ сыворотки крови на аутоантитела к глутаматным *NMDA*-рецепторам выявил повышение их титра у всех больных острым ишемическим инсультом по сравнению со здоровыми испытуемыми ($p < 0,01$), причем это повышение было значительно большим у пациентов с тяжелым состоянием. Различия в уровне аутоантител к *NMDA*-рецепторам при тяжелом и средней тяжести состоянии в группах плацебо и у больных, получавших глицин в дозе 0,5 г/сут, сохранялись в течение 12 ч после развития инсульта ($p = 0,01$). В то же время у тяжелобольных, получавших глицин в дозах 1 и 2 г/сут, уже после первого их применения отмечалась стабильная нормализация титра аутоантител ($p < 0,01$ по сравнению с плацебо и группой получавших 0,5 г/сут глицина), что приводило к стиранию различий в уровне аутоантител с больными, находившимися в состоянии средней тяжести. Статистический анализ результатов теста ANOVA определил достоверные различия ($p < 0,01$) в динамике титров аутоантител во временном интервале первые 6 ч — 12 ч заболевания между больными, получавшими глицин в дозе 1—2 г/сут, и получавшими плацебо и 0,5 г/сут глицина. Как видно

Таблица 3. Прирост суммарного клинического балла по шкалам Оргогозо и Скандинавской при разной степени тяжести инсульта ($M \pm m$)

Подгруппа больных	Плацебо <i>n</i> = 50	Глицин		
		0,5 г/сут <i>n</i> = 49	1 г/сут <i>n</i> = 51	2 г/сут <i>n</i> = 50
К 6-м суткам заболевания				
Шкала Оргогозо				
С малым инсультом и инсультом средней тяжести (балл по Оргогозо более 40)	+14,28±1,1 (31)	+14,58±1,4 (29)	+22,28±1,3** (30)	+17,09±1,2 (30)
С тяжелым инсультом (балл по Оргогозо 40 и менее)	+6,09±0,6 (19)	+6,65±0,8 (20)	+21,44±1,1** (21)	+18,58±1,0** (20)
Скандинавская шкала				
С малым инсультом и инсультом средней тяжести (балл по Оргогозо более 40)	+5,15±0,7 (31)	+5,28±0,6 (29)	+7,31±0,5* (30)	+6,91±0,7 (30)
С тяжелым инсультом (балл по Оргогозо 40 и менее)	+3,95±0,7 (19)	+3,58±0,6 (20)	+13,24±0,7** (21)	+12,08±0,7** (20)
К 30-м суткам заболевания				
Шкала Оргогозо				
С малым инсультом и инсультом средней тяжести (балл по Оргогозо более 40)	+20,23±1,4 (31)	+26,61±1,5* (29)	+33,97±1,7** (30)	+28,56±1,3** (30)
С тяжелым инсультом (балл по Оргогозо 40 и менее)	+18,72±1,2 (19)	+21,84±1,1 (20)	+38,37±1,3** (21)	+37,06±1,3** (20)
Скандинавская шкала				
С малым инсультом и инсультом средней тяжести (балл по Оргогозо более 40)	+10,37±0,5 (31)	+17,16±0,5** (29)	+21,29±0,6** (30)	+20,77±0,6** (30)
С тяжелым инсультом (балл по Оргогозо 40 и менее)	+13,72±0,8 (19)	+15,05±0,9 (20)	+26,33±0,9** (21)	+26,09±0,9** (20)

Примечание. В скобках — число больных. Звездочками отмечены достоверные различия с группой плацебо: одной — $p < 0,05$, двумя $p < 0,01$.

Таблица 4. Степень функционального восстановления (по шкале Бартеля) больных к 30-м суткам инсульта

Индекс Бартеля на 30-е сутки, баллы	Плацебо (1)	Глицин						
		0,5 г/сут (2)	1 г/сут (3)	p_{1-3}	p_{2-3}	2 г/сут (4)	p_{1-4}	p_{2-4}
Группа в целом:								
летальный исход	7/50 (14,0%)	7/49 (14,3%)	3/51 (5,9%)			5/50 (10,0%)		
0—45	9/50 (18,0%)	6/49 (12,2%)	0/51 (0%)	<0,01	<0,05	2/50 (4,0%)	<0,05	<0,05
50—70	20/50 (40,0%)	19/49 (38,8%)	8/51 (15,7%)	<0,05	<0,05	10/50 (20,0%)		
75—100	14/50 (28,0%)	17/49 (34,7%)	40/51 (78,4%)	<0,01	<0,05	33/50 (66,0%)		
Пациенты с малым инсультом и инсультом средней тяжести (балл по Оргогозо более 40):								
летальный исход	2/31 (6,5%)	2/29 (6,9%)	0/30 (0%)			1/30 (3,3%)		
0—45	1/31 (3,2%)	1/29 (3,5%)	0/30 (0%)			0/30 (0%)		
50—70	16/31 (51,6%)	13/29 (44,8%)	3/30 (10,0%)	<0,01		4/30 (13,3%)	<0,05	
75—100	12/31 (38,7%)	13/29 (44,8%)	27/30 (90,0%)	<0,05		25/30 (83,3%)		
Пациенты с тяжелым инсультом (балл по Оргогозо 40 и менее):								
летальный исход	5/19 (26,3%)	5/20 (25,0%)	3/21 (14,3%)			4/20 (20,0%)		
0—45	8/19 (42,1%)	5/20 (25,0%)	0/21 (0%)	<0,01		2/20 (10,0%)		
50—70	4/19 (21,1%)	6/20 (30,0%)	5/21 (23,8%)			6/20 (30,0%)		
75—100	2/19 (10,5%)	4/20 (20,0%)	13/21 (61,9%)	<0,05		8/20 (40,0%)		

Примечание. 0—45 баллов по шкале Бартеля соответствуют тяжелой инвалидизации, 50—70 баллов — умеренной инвалидизации, 75—100 баллов — минимальному ограничению или сохранению неврологических функций.

из табл. 5 и рисунка, регрессионное течение инсульта у всех обследованных больных сопровождалось нормализацией титра аутоантител к *NMDA*-рецепторам к 9–12 ч после развития заболевания.

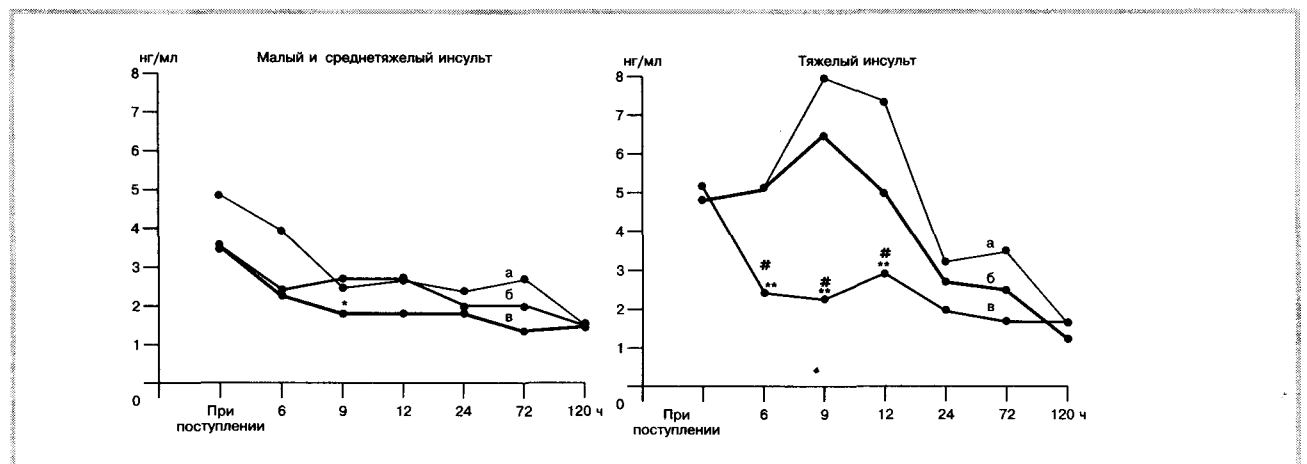
Анализ концентраций нейротрансмиттерных аминокислот в спинномозговой жидкости в первые 6 ч инсульта (перед введением глицина) обнаружил у всех больных существенное повышение по сравнению с контролем уровня возбуждающих медиаторов — глутамата и аспартата ($p < 0,001$), а также тенденцию к

повышению концентрации глицина ($p < 0,05$). Концентрация ГАМК у больных с состоянием средней тяжести не отличалась от контроля, в то время как у пациентов с исходно тяжелым состоянием уровни ГАМК были значительно ниже контроля ($p < 0,01$). Между группами больных существенных различий в исходных уровнях аминокислот не выявлено (табл. 6). Динамика концентраций возбуждающих и тормозных аминокислот к 3-суткам заболевания в группе плацебо и принимавших глицин в дозе 0,5 г/сут была ана-

Таблица 5. Титры аутоантител к фениклидинсвязывающему белку глутаматных *NMDA*-рецепторов (в нг/мл) в сыворотке крови больных в разные сроки обследования

Момент исследования	Плацебо (1)	p_{1-k}	Глицин				
			0,5 г/сут (2)	p_{2-k}	1–2 г/сут (3)	p_{3-k}	p_{1-3} p_{2-3}
Больные с малым инсультом и инсультом средней тяжести:	$n = 31$		$n = 29$		$n = 60$		
при поступлении (до применения глицина)	$4,86 \pm 0,8$	$< 0,01$	$3,51 \pm 0,9$	$< 0,01$	$3,55 \pm 0,4$	$< 0,01$	
6 ч	$3,95 \pm 0,7$		$3,45 \pm 0,7$		$2,30 \pm 0,8$		
9 ч	$2,54 \pm 0,3$		$2,74 \pm 0,8$		$1,85 \pm 0,7$		$< 0,05$
12 ч	$2,72 \pm 0,3$		$2,78 \pm 0,3$		$1,84 \pm 0,4$		
24 ч	$2,45 \pm 0,3$		$2,05 \pm 0,3$		$1,89 \pm 0,2$		
72 ч	$2,80 \pm 0,5$		$2,10 \pm 0,4$		$1,42 \pm 0,6$		
120 ч	$1,63 \pm 0,1$		$1,59 \pm 0,1$		$1,55 \pm 0,4$		
Больные с тяжелым инсультом:	$n = 19$		$n = 20$		$n = 41$		
при поступлении (до применения глицина)	$5,04 \pm 0,9^*$	$< 0,01$	$4,75 \pm 0,7^*$	$< 0,01$	$5,10 \pm 0,6^*$	$< 0,01$	
6 ч	$5,10 \pm 0,7^*$		$5,05 \pm 0,8^*$		$2,40 \pm 0,4$		$< 0,01$ $< 0,01$
9 ч	$7,90 \pm 1,2^*$		$6,41 \pm 1,1^*$		$2,23 \pm 0,4$		$< 0,01$ $< 0,01$
12 ч	$7,30 \pm 1,5^*$		$4,95 \pm 0,6^*$		$2,90 \pm 0,5$		$< 0,01$ $< 0,01$
24 ч	$3,20 \pm 0,6$		$2,70 \pm 0,3$		$1,95 \pm 0,5$		
72 ч	$3,50 \pm 0,5$		$2,55 \pm 0,3$		$1,70 \pm 0,1$		
120 ч	$1,67 \pm 0,3$		$1,30 \pm 0,4$		$1,66 \pm 0,1$		

Примечание. * — достоверные различия между группами больных с тяжелым инсультом и инсультом средней тяжести ($p < 0,01$). К — контроль.



Титры аутоантител к глутаматным *NMDA*-рецепторам в сыворотке крови больных в разные сроки с момента развития инсульта.

а — плацебо; б — глицин в дозе 0,5 г/сут; в — глицин в дозе 1–2 г/сут. Звездочками отмечены достоверные различия с группой плацебо (одной — $p < 0,05$, двумя — $p < 0,01$), значком # — с группой пациентов, получавших глицин в дозе 0,5 г/сут ($p < 0,01$).

логичной ($p > 0,05$). На фоне применения глицина в дозе 1—2 г/сут определялась тенденция к нормализации содержания аминокислот, которая была более достоверной и выраженной у исходно тяжелых больных. В группе тяжелобольных к 3-м суткам инсульта отмечалось достоверное снижение уровня глутамата на 35% ($p < 0,05$ по сравнению с группой плацебо и группой получавших глицин в дозе 0,5 г/сут; $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем в 1-е сутки) и аспартата на 31% ($p < 0,05$ по сравнению с теми же показателями), а также значительное нарастание концентрации ГАМК ($p < 0,01$ по сравнению с группами плацебо и больных, получавших глицин в дозе 0,5 г/сут; $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем в 1-е сутки). У больных с состоянием средней тяжести применение глицина в дозах 1—2 г/сут сопровождалось аналогичными тенденциями в динамике концентраций аминокислот, однако статистически значимые различия были получены только для аспартата ($p < 0,01$

по сравнению с группой плацебо и исходным уровнем в 1-е сутки (см. табл. 6).

Изучение вторичных продуктов ПОЛ в первые 6 ч инсульта (перед началом терапии глицином) обнаружало умеренное повышение их уровня против контроля ($p < 0,05$) во всех группах больных без существенных различий между ними. У пациентов с состоянием средней тяжести, получавших плацебо, к 3-м суткам отмечалась тенденция к дальнейшему увеличению концентрации продуктов ПОЛ. Вместе с тем в группах получавших глицин отмечено снижение этого показателя, наиболее выраженное при применении глицина в дозах 1—2 г/сут ($p < 0,05$ по сравнению с плацебо). У пациентов с исходно тяжелым состоянием во всех исследованных группах сохранялась тенденция к нарастанию концентрации продуктов ПОЛ к 3-м суткам инсульта, однако она была достоверно ($p < 0,05$) менее выраженной на фоне лечения глицином: на 19,58% при применении глицина в дозе 1—2

Таблица 6. Концентрации нейротрансмиттерных аминокислот (в мкмоль/л) в спинномозговой жидкости больных в разные сроки обследования ($M \pm SD$)

Аминокислота	Плацебо (1)	P_{1-K}	Глицин					
			0,5 г/сут (2)	P_{2-K}	1—2 г/сут (3)	P_{3-K}	P_{1-3}	P_{2-3}
Больные с малым инсультом и инсультом средней тяжести	$n = 31$		$n = 29$		$n = 60$			
Глутамат								
первые 6 ч	26,30±3,5	<0,001	25,50±4,35	<0,001	21,96±3,2	<0,001		
3-и сутки	16,66±1,84		17,88±1,7		14,89±1,16			
Аспартат								
первые 6 ч	79,88±7,13	<0,001	82,88±7,73	<0,001	90,38±7,28	<0,001		
3-и сутки	98,33±1,73		80,63±8,03		66,90±5,03**		<0,01	
Глицин								
первые 6 ч	24,21±4,4		28,60±5,72		35,91±2,79			
3-и сутки	29,93±2,8		32,59±4,92		34,16±3,33			
ГАМК								
первые 6 ч	0,87±0,49		0,97±0,87		0,68±0,29			
3-и сутки	1,75±0,87		1,65±0,78		1,94±0,68			
Больные с тяжелым инсультом	$n = 19$		$n = 20$		$n = 41$			
Глутамат								
первые 6 ч	33,86±5,17	<0,001	32,30±4,15	<0,001	35,84±3,47	<0,001		
3-и сутки	38,49±6,46		36,37±5,92		23,32±1,97**		<0,05	<0,05
Аспартат								
первые 6 ч	70,05±6,38	<0,001	65,25±5,78	<0,001	59,78±2,48	<0,001		
3-и сутки	54,98±4,88		56,48±5,03		41,18±3,08*		<0,05	<0,05
Глицин								
первые 6 ч	27,53±3,59		30,99±3,86		40,03±2,53			
3-и сутки	36,44±4,12		28,86±4,39		28,99±1,99*			
ГАМК								
первые 6 ч	0,097±0,097	<0,01	0,097±0,097	<0,01	0,19±0,097	<0,01		
3-и сутки	0,097±0,097		0,29±0,097		1,94±0,49*		<0,01	<0,01

Примечание. Звездочками отмечены достоверные различия между концентрациями аминокислот в первые 6 ч и на 3-и сутки инсульта: одной — $p < 0,05$, двумя — $p < 0,01$. К — контроль.

г/сут, на 45% — при его дозе 0,5 г/сут и на 68,3% в группе плацебо (табл. 7).

Таким образом, свойства аминокислот глицина как тормозного нейротрансмиттера и универсального конъюгата низкомолекулярных токсичных продуктов позволили предположить наличие у фармацевтического препарата глицина нейропротективного эффекта при острой церебральной ишемии. Экспериментальные данные, демонстрирующие противосудорожную активность глицина и его агонистов [26, 27, 38, 39, 44], косвенно подтверждали это предположение. Как было показано в экспериментах на моделях фокальной ишемии переднего мозга, введение глицина ускоряет ГАМК-цикл и повышает концентрацию эндогенного глицина, что отражает активацию тормозных нейротрансмиттерных систем и способствует уменьшению дисбаланса между возбуждающей и тормозной нейромедиацией. Одновременно отмечено значимое уменьшение на фоне применения глицина концентраций продуктов оксидантного стресса в зоне церебральной ишемии. Эти биохимические изменения сопровождались достоверной нормализацией поведенческих реакций у ишемизированных крыс [4, 41].

На момент начала настоящего исследования фармацевтический препарат глицин («Биотики», Россия) широко применялся у пациентов с алкогольной интоксикацией, астеновегетативной дисфункцией и неврозоподобными состояниями [25]. Продемонстрирована безопасность применения препарата глицина, отсутствие у него выраженных побочных эффектов, кроме незначительного седативного действия [25].

В данном исследовании установлено, что сублинвальное использование глицина в дозе 1 и 2 г/сут у больных в остром периоде ишемического инсульта в течение 5 дней от его начала приводит к снижению смертности и уменьшению функционального дефекта, определяемого по индексу Бартеля (увеличению числа пациентов с полным восстановлением неврологических функций или их умеренным ограничением — выше 70 баллов). На фоне лечения глицином выявлено существенное ускорение положительной клинической динамики как к 6-м суткам заболева-

ния (по окончании курса применения глицина), так и к концу острого периода инсульта (по шкалам Оргозо и Скандинавской $p < 0,01$ по сравнению с плацебо). Особенно важно отметить положительное влияние глицина у больных с исходно тяжелым состоянием, принимая во внимание тот факт, что у пациентов с состоянием средней тяжести восстановление функций может произойти и независимо от лечения. В применявшихся дозах глицин не оказывал статистически значимого влияния на параметры ЭКГ и гемореологические показатели. Настоящее исследование подтвердило отсутствие побочных эффектов у препарата глицина, что соответствует полученным ранее результатам [25] и может быть объяснено естественной природой этого регулятора обмена веществ в мозге.

Повышение титра аутоантител к *NMDA*-рецепторам обнаружено у всех обследованных больных в первые 3–6 ч после развития инсульта и при тяжелом течении заболевания. Нарастание уровня аутоантител, по-видимому, связано с проникновением фрагментов *NMDA*-рецепторов, поврежденных избытком экстрацеллюлярного глутамата, через гематоэнцефалический барьер и последующей индукцией нормального иммунного ответа. В предыдущих исследованиях мы установили корреляцию между степенью повышения уровня аутоантител к *NMDA*-рецепторам, с одной стороны, тяжестью острого ишемического инсульта и выраженностью неврологического дефицита — с другой [2]. Было показано, что устойчивая нормализация уровня аутоантител к 3-м суткам инсульта является предиктором его благоприятного исхода с наиболее полным восстановлением нарушенных неврологических функций [2]. Настоящее исследование выявило раннюю достоверную нормализацию титра аутоантител при применении 1–2 г/сут глицина, которая была особенно четко выражена у пациентов с тяжелым течением болезни и коррелировала с ускоренным восполнением неврологического дефицита, что отражало улучшение функционального состояния глутаматных *NMDA*-рецепторов, возможно, вследствие уменьшения глутаматной эксайтотоксичности под влиянием глицина.

Анализ содержания нейротрансмиттерных аминокислот в спинномозговой жидкости подтвердил регулирующее действие глицина на баланс аминокислотных медиаторов с уменьшением выраженности глутаматной эксайтотоксичности. Как и в предыдущих работах [8, 12, 18], в настоящем исследовании выявлено существенное повышение концентрации возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата и аспартата) в первые часы ишемического инсульта, более выраженное в группе тяжелобольных. Использование глицина в дозах 1–2 г/сут не только статистически значимо снижало уровень глутамата и аспартата, но и существенно увеличивало концентрацию ГАМК (по сравнению с группой плацебо и показателями 1-х суток). Интересно, что применение экзогенного глицина (1–2 г/сут) у тяжелобольных сопровождалось достоверным снижением концентрации глицина в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам заболевания, что может быть связано с нормализацией аминокислотного метаболизма в ткани

Таблица 7. Концентрации вторичных продуктов ПОА (в нмоль/мл) в спинномозговой жидкости больных в разные сроки обследования

Момент исследования	Плацебо	Глицин	
		0,5 г/сут	1–2 г/сут
Больные малым инсультом и инсультом средней тяжести:	<i>n</i> = 31	<i>n</i> = 29	<i>n</i> = 60
первые 6 ч	3,03±0,7	3,02±0,55	2,82±0,8
3-и сутки	3,95±0,94	2,48±1,2	1,48±0,54*
Больные с тяжелым инсультом:	<i>n</i> = 19	<i>n</i> = 20	<i>n</i> = 41
первые 6 ч	3,29±1,4	3,1±1,3	2,86±1,4
3-и сутки	5,54±1,8	4,5±0,5	3,42±1,8*

Примечание. * — достоверные различия между группой плацебо и группой пациентов, получавших глицин в дозе 1–2 г/сут ($p < 0,05$).

мозга в результате повышения концентрации внутриклеточного глицина и активного включения его в анаболические клеточные процессы.

Проведенное исследование позволило установить нейротрансмиттерные эффекты фармацевтического препарата глицина, а также подтвердить его общеметаболическое действие. Введение глицина в дозах 1—2 г/сут статистически достоверно снижало интенсивность процессов ПОЛ у больных с инсультом средней тяжести и замедляло развитие оксидантного стресса при тяжелом течении заболевания.

Таким образом, сублингвальное применение препарата глицина (1—2 г/сут), начатое в первые 6 ч с

момента развития ишемического инсульта и продолжающееся 5 дней, оказывает положительное влияние на клиническое течение острого периода заболевания: снижает 30-дневную летальность, улучшает восстановление неврологических функций. Установлено многокомпонентное нейропротективное действие препарата, направленное на устранение дисбаланса между возбуждающими и тормозными медиаторными системами (снижение глутаматной эксайтотоксичности, стимуляция естественных защитных тормозных систем мозга), уменьшение выраженности процессов оксидантного стресса (снижение концентрации вторичных продуктов ПОЛ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадиков В.И., Гитель Е.П., Иванова Н.Я. и др. Бюл экспер биол 1990; 110: 9: 236—237.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Изыкенова Г.А. и др. Журн неврол и психиатр 1996; 5: 68—72.
3. Лаврецкая Е.Ф. Фармакологическая регуляция умственных процессов. М 1985.
4. Раевский К.С., Романова Г.А., Кудрин В.С., Маликова Л.А. Бюл экспер биол 1997; 123: 4: 370—373.
5. Beaughard M., Michelin M., Massingham R. J. Krieglstein, H. Oberpichler (eds) Pharmacology of Cerebral Ischemia. Stuttgart 1990; 275—280.
6. Buchan A., Hui L., Pulsinelli W.A. J Neurosci 1991; 11: 1049.
7. Carter A.J. Drugs Future 1992; 17: 595—613.
8. Castillo J., Davalos A., Noya M. Lancet 1997; 349: 79—83.
9. Chizhnikov I.V., Kishin N.I., Krishtal O.A., Tsyndrenko A.Y. Neurosci Lett 1989; Apr 24: 99: 1—2: 131—136.
10. Croucher M.J., Bradford H.F. Brain Res 1991; 543: 91—96.
11. Dambinova S.A. Eur Patent Bull 1993; 93/69 WO 93/00586.
12. Davalos A., Naveiro J., Noya M. Stroke 1996; 27: 1060—1065.
13. Fagg G.E., Foster A.C. Neurosci 1983; 9: 4: 701—719.
14. Fisher M.A. J Cerebrovasc Dis 1991; 1: 1: 112—119.
15. Ginsberg M.D., Globus M.Y.-T., Busto R., Dietrich W.D. J. Krieglstein, H. Oberpichler (eds). Pharmacology of Cerebral Ischemia. Stuttgart 1990; 499—510.
16. Giroux C., Scatton B. Eur Neurol 1996; 36: 2: 61—64.
17. Granger C.V., Hamilton B.R., Gresham G.E., Kramer A.A. Arch Phys Med Rehabil 1989; 70: 100—103.
18. Gusev E.I., Skvortsova V.I., Raevskiy K.S. et al. Eur J Neurol 1997; 4: 1: 152/78.
19. Henderson G., Johnson J., Ascher P. J Physiol 1990; 430: 189—212.
20. James T.A., Starr M.S. Eur J Pharmacol 1979; 57: 115—125.
21. Johnson J.W., Ascher P. Nature 1987; 325: 529—531.
22. Jones M.G., Szatkowski M.S. Neurosci Lett 1995; Dec 15: 201: 3: 227—230.
23. Kemp J.A., Leeson P.D. Trends Pharmacol Sci 1993; 14: 20—25.
24. Kleckner N.W., Dingleline R. Science 1988; 24: 835.
25. Komissarova I.A., Gudkova Ju.V., Soldatenkova T.D. et al. Patent Bull Russian Federation 1992; № 2025124.
26. Lapin I.P. Eur J Pharmacol 1981; 71: 495—498.
27. Loscher W., Wlaz P., Rundfeldt C. et al. Br J Pharmacol 1994; 112: 97—106.
28. Mahoney F.I., Barthel D.W. Md State Med J 1965; 14: 61—65.
29. Mayor F., Valdivieso F., Ugar M. J Amino Acid Neurotransmitters Advanced in Biochem Psychopharm 1991; 29: 551—560.
30. Meister A. Biochemistry of the Amino Acids. New York 1957.
31. Obrenovitch T.P., Urenjak J., Zilkha E. Br J Pharmacol 1994 Dec; 113: 4: 1295—1302.
32. Obrenovitch T.P., Hardy A.M., Urenjak J. Brain Res 1997; Jan 23: 746: 1—2: 190—194.
33. Ohkawa H., Ohisi N., Yagi K. Analyt Biochem 1995; 95: 351—355.
34. O'Neill M., Allain H., Bentue-Ferrer D. et al. Eur Neurol 1995; 35: 1: 28—36.
35. Orgogozo J.M., Dartigues J.F. N. Battistini et al. (eds). Acute Brain Ischemia. Medical and Surgical Therapy. New York 1986; 282—289.
36. Patel J., Zinkand W.C., Thompson C. et al. Neurochem 1990; 54: 849—854.
37. Peterson S.L., Boehnke L.E. 1989; 104: 113—117.
38. Peterson S.L. Eur J Pharmacol 1991; 199: 341—348.
39. Peterson S.L., Schwade N.D. Epilepsy Res 1993; 15: 141—148.
40. Priestley T., Horne A.L., McKernan R.M., Kemp J.A. Brain Res 1990; 531: 183—188.
41. Romanova G.A., Kudrin V.S., Malikova L.A. Pharmacol Res 1995; 31: 128.
42. Scandinavian Stroke Study Group Stroke 1985; 16: 885—890.
43. Scheinberg P. Neurology 1991; 41: 1867—1873.
44. Scolnick P., Marvizon J., Jackson B. et al. Life Sci 1989; 45: 1647—1655.
45. Silver B., Weber J., Fisher M. Clin Neuropharmacol 1996; 19: 2: 101—128.
46. Stark L., Peterson S.L., Ablertson T.E. (Ed.) J.A. Wada. Kindling 4. New York 1990; 267—281.
47. Thomson A.M. Prog Neurobiol 1990; 35: 53—74.
48. Toth E., Lajtha A., Sarhan S., Seiler N. Neurochem Res 1983; 8: 291—302.
49. Triklebank M.D., Saywell K. Soc Neurosci Abstr 1990; 16: 462.
50. Von Lubitz D.K.J.E., Lin R.C.-S., McKenzie R.J. et al. Eur J Pharmacol 1992; 219: 153—158.
51. Williams R. R. Dernfeld (ed.) Biogenesis of natural compounds. New York 1963; 368—404.

Поступила 11.09.98