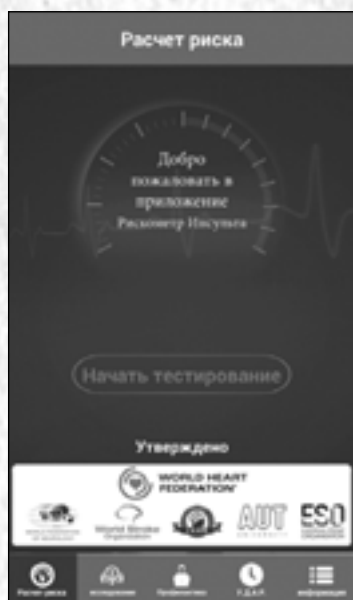


# Анналы

клинической и экспериментальной

# НЕВРОЛОГИИ

4



## Научному центру неврологии – 70 лет

### Клиническая неврология

Передовые технологии нейровизуализации  
Новый подход к профилактике инсульта в России  
Клинико-нейровизуализационные особенности венозных инсультов  
Навигационная рТМС в постинсультной реабилитации  
АнтиGAD-ассоциированные неврологические синдромы  
Гибкая эндоскопия в нейрохирургии

### Фундаментальная неврология

Эндогенные ретровирусы и рассеянный склероз  
Современные тенденции в развитии метода  
локальной фиксации потенциала  
Редактирование генома в нейробиологии

# Берлитион®

тиоктовая кислота

## ЭНДОГЕННЫЙ АНТИОКСИДАНТ ПРЯМОГО И НЕПРЯМОГО ДЕЙСТВИЯ<sup>1</sup>

Теперь 3 формы:

600 мг ампулы



300 мг ампулы



300 мг таблетки



### Широкая линейка доз и лекарственных форм<sup>1</sup>

- Патогенетическое лечение диабетической полинейропатии<sup>2</sup>
- Антиоксидантная защита нервных волокон от воздействия свободных радикалов<sup>1</sup>
- Способствует восстановлению болевой и тактильной чувствительности при диабетической полинейропатии<sup>3</sup>

Краткая информация по медицинскому применению лекарственных препаратов Берлитион®300 и Берлитион®600

Международное непатентованное название: тиоктовая кислота.

**Показания:** диабетическая полинейропатия; алкогольная полинейропатия.

**Противопоказания:** повышенная чувствительность к тиоктовой (α-липоевой) кислоте или другим компонентам препарата; беременность, период грудного вскармливания; возраст до 18 лет; дефицит лактазы, наследственная непереносимость лактозы, синдром глюкозо-галактозной мальабсорбции (для таблетированной формы).

**Способ применения и дозы.** В начале лечения препарат назначают внутривенно капельно в суточной дозе 300-600 мг. Перед применением содержимое ампул разводят в 250 мл 0,9% раствора натрия хлорида и вводят внутривенно капельно медленно, в течение не менее 30 минут. Поскольку действующее вещество чувствительно к свету, раствор для инфузии готовят непосредственно перед применением. Защищенный от света раствор может храниться примерно в течение 6 часов. Курс лечения составляет 2-4 недели. Затем переходят на поддерживающую терапию таблетированной формой препарата (таблетки, покрытые пленочной оболочкой) в дозе 300-600 мг в сутки.

Таблетки принимают натощак, приблизительно за 30 минут до приема пищи, не разжевывая, запивая достаточным количеством жидкости. Возможно длительное применение препарата.

- Литература:
1. Инструкция по применению препарата Берлитион®300 № ПН011433/01-060711 с изменениями от 26.09.2014, препарата Берлитион®300 № ПН011434/01-020911 с изменениями от 06.06.2012, препарата Берлитион®600 № ЛП-001615-280312.
  2. Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. Diabetes Care 2010; 33:2285-2293.
  3. Ziegler D., Nowak H., Kempner P. et al. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with antioxidant α-lipoic acid: a meta-analysis // Diabetic Medicine, 2004, Vol.21, P.114-121

та. Продолжительность курса лечения и необходимость его повторения определяются врачом.

**Побочные эффекты.** Со стороны нервной системы: изменение или нарушение вкусовых ощущений, диплопия, судороги. Со стороны системы гемостаза: пурпура, тромбоцитопатия. Со стороны обмена веществ: снижение уровня глюкозы в плазме крови (из-за улучшения усвоения глюкозы). Со стороны иммунной системы: аллергические реакции, такие как кожная сыпь, крапивница (уртикарная сыпь), зуд, в единичных случаях – анафилактический шок. Местные реакции (при применении парентеральных форм): чувство жжения в месте введения. Прочие (при применении парентеральных форм): при быстром внутривенном введении наблюдались самопроизвольно проходящие повышение внутричерепного давления (чувство тяжести в голове) и затруднение дыхания.

**Условия хранения:** при температуре не выше 25°C, в защищенном от света месте.

Не замораживать.

Лекарственное средство хранить в недоступном для детей месте.

**Условия отпуска из аптек:** по рецепту.

Подробная информация о препарате содержится в инструкции по применению препарата Берлитион®300 № ПН011433/01-060711 с изменениями от 26.09.2014, препарата Берлитион®300 № ПН011434/01-020911 с изменениями от 06.06.2012, препарата Берлитион®600 № ЛП-001615-280312. Информация для специалистов здравоохранения. Отпускается по рецепту.



БЕРЛИН-ХЕМИ  
МЕНАРИНИ

ООО «Берлин-Хеми/А.Менарини»  
123317, Москва, Пресненская набережная, д. 10  
БЦ «Башня на Набережной», блок Б  
Тел.: (495) 785-01-00, факс: (495) 785-01-01  
<http://www.berlin-chemie.ru>

## Главный редактор

М.А. Пирадов — д.м.н., проф., член-корреспондент РАН

## Заместители главного редактора

С.Н. Иллариошкин — д.м.н., проф. М.М. Танашян — д.м.н., проф.

## Ответственный секретарь

Е.В. Гнедовская — к.м.н.

## Редакционная коллегия

Г.Н. Авакян — д.м.н., проф.  
Н.Н. Боголепов — д.м.н., проф., академик РАН  
Ю.Я. Варакин — д.м.н., проф.  
Т.С. Гулевская — д.м.н., проф.  
И.А. Завалишин — д.м.н., проф.  
А.С. Кадьков — д.м.н., проф.  
Л.А. Калашникова — д.м.н., проф.  
В.Н. Корниенко — д.м.н., проф., академик РАН  
В.Г. Скребицкий — д.б.н., проф., член-корреспондент РАН  
В.Л. Фейгин — д.м.н., проф., Н.Н. Яхно — д.м.н., проф., академик РАН

## Редакционный совет

Г.Н. Бельская — д.м.н., проф.  
А.И. Григорьев — д.м.н., проф., академик РАН  
Е.И. Гусев — д.м.н., проф., академик РАН  
М.Ф. Исмагилов — д.м.н., проф.  
С.А. Лимборская — д.б.н., проф.  
Л.Б. Лихтерман — д.м.н., проф., член-корреспондент РАН  
В.В. Машин — д.м.н., проф.  
Л.Б. Новикова — д.м.н., проф., М.М. Одинак — д.м.н., проф., член-корреспондент РАН  
П.И. Пилипенко — д.м.н., проф.  
С.В. Прокопенко — д.м.н., проф.  
А.А. Скоромец — д.м.н., проф., академик РАН  
И.Д. Столяров — д.м.н., проф.  
А.И. Федин — д.м.н., проф.  
Л.Г. Хаспеков — д.б.н.  
Л.А. Черникова — д.м.н., проф.  
В.П. Чехонин — д.м.н., проф., академик РАН  
В.И. Шмырев — д.м.н., проф.

## Editor-in-Chief

Professor M.A. Piradov — D.Med.Sci, corresponding member of the Russian Academy of Sciences

## Vice Editors

Professor S.N. Illarioshkin — D.Med.Sci Professor M.M. Tanashyan — D.Med.Sci

## Executive Editor

E.V. Gnedovskaya — Ph.D.

## Editorial Board

Professor G.N. Avakyan — D.Med.Sci  
Professor N.N. Bogolepov — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor V.L. Feigin — D.Med.Sci  
Professor T.S. Gulevskaya — D.Med.Sci  
Professor A.S. Kadykov — D.Med.Sci  
Professor L.A. Kalashnikova — D.Med.Sci  
Professor V.N. Korniyenko — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor V.G. Skrebitskiy — D.Biol.Sci, corresponding member of the Russian Academy of Sciences  
Professor Yu.Ya. Varakin — D.Med.Sci  
Professor N.N. Yakhno — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor I.A. Zavalishin — D.Med.Sci

## Editorial Council

Professor G.N. Belskaya — D.Med.Sci  
Professor V.P. Chekhonin — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor L.A. Chernikova — D.Med.Sci  
Professor A.I. Fedin — D.Med.Sci  
Professor A.I. Grigoryev — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor Ye.I. Gusev — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor M.F. Ismagilov — D.Med.Sci  
L.G. Khaspekov — D.Biol.Sci  
Professor L.B. Likhterman — D.Med.Sci  
Professor S.A. Limborskaya — D.Med.Sci  
Professor K.V. Lyadov — D.Med.Sci, corresponding member of the Russian Academy of Sciences  
Professor V.V. Mashin — D.Med.Sci  
Professor V.V. Novikova — D.Med.Sci  
Professor M.M. Odnak — corresponding member of the Russian Academy of Sciences  
Professor P.I. Pilipenko — D.Med.Sci  
Professor S.V. Prokopenko — D.Med.Sci  
Professor V.I. Shmyrev — D.Med.Sci  
Professor A.A. Skoromets — D.Med.Sci, member of the Russian Academy of Sciences  
Professor I.D. Stolyarov — D.Med.Sci

# Анналы

клинической и экспериментальной

# НЕВРОЛОГИИ

Annals of clinical and experimental neurology

Том 9. № 4 2015  
www.annaly-nevrologii.ru

УЧРЕДИТЕЛИ: ФГБНУ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ» (ФГБНУ НЦН) И ЗАО «РКИ СОВЕРО ПРЕСС».

© Издатель ЗАО «РКИ Соверо пресс». Президент: В.Б. Тараторкин. Генеральный директор: Е.М. Акимова,

Директор отдела развития и распространения: К.А. Бабаскина, верстка: А.А. Виноградова, редакторы: М.И. Лаптева, С.М. Сосновская.

Россия, 125130 Москва, 4-й Новоподмосковный пер., д. 4. Тел.: +7 (499) 159-98-47, e-mail: soveropress@bk.ru, [www.annaly-nevrologii.ru](http://www.annaly-nevrologii.ru), [www.soveropress.ru](http://www.soveropress.ru)

Издание зарегистрировано в Федеральной службе по надзору за соблюдением законодательства

в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия 16 февраля 2007 года. Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-27224.

Решением Президиума ВАК Минобрнауки России журнал включен в перечень периодических изданий, рекомендованных для публикации работ соискателей ученых степеней.

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Инструкция для авторов размещена на сайте [www.annaly-nevrologii.ru](http://www.annaly-nevrologii.ru). Плата с аспирантов за публикации не взимается.

Рукописи и иллюстрации не возвращаются. За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.

Журнал рецензируемый, выходит 4 раза в год, тираж до 4 100 экз.

Журнал включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)

Подписка в редакции и на сайте. Подписной индекс в каталоге «Пресса России»: 11878 (на год), 29662 (на полгода).

На 1-й с. обложки: рис. 2 из статьи В.Л. Фейгина и др. (с. 20)

## **В номере:**

Обращение главного редактора 5

---

Научному центру неврологии – 70 лет 6

---

**Клиническая неврология** 11

---

Передовые технологии нейровизуализации

*М.А. Пирадов, М.М. Танашиян, М.В. Кротенкова, В.В. Брюхов, Е.И. Кремнева, Р.Н. Коновалов  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)*

---

Новый подход к профилактике инсульта в России 19

*В.Л. Фейгин, Ю.Я. Варакин, М.А. Кравченко, М.А. Пирадов, М.М. Танашиян, Е.В. Гнедовская, Л.В. Стаховская,  
Н.А. Шамалов, Р. Кришнамурти, Р. Бхаттачарджи, П. Пармар, Т. Хуссейн, С. Барке-Колло  
Национальный институт инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете (Окленд,  
Новая Зеландия); Университет Вашингтона (Вашингтон, США); ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный  
медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск); ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва);  
НИИ цереброваскулярной патологии и инсульта, ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва)*

---

Сравнительное клинико-нейровизуализационное исследование венозных  
и артериальных инсультов 24

*В.В. Машин, Л.А. Белова, М.Ю. Моисеев, А.Н. Прошин  
ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет (Ульяновск)*

---

Навигационная ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция  
в постинсультной реабилитации: рандомизированное слепое  
плацебо-контролируемое исследование 30

*А.В. Червяков, А.Г. Пойдашева, М.А. Назарова, В.В. Гнездицкий, Н.А. Супонева, Л.А. Черникова, М.А. Пирадов  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)*

---

Спектр неврологических синдромов, ассоциированных с антителами  
к глутамат-декарбоксилазе 37

*М.Ю. Краснов, Э.В. Павлов, М.В. Ершова, С.Л. Тимербаева, С.Н. Иллариошкин  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)*

---

Гибкая эндоскопия в нейрохирургии 42

*А.О. Гуца, М.С. Семенов, А.А. Кащеев, С.О. Арестов, Л.Т. Лепсверидзе  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)*

---

**Фундаментальная неврология** 49

Эндогенные ретровирусы: от фундаментальных исследований  
к этиотропной терапии рассеянного склероза

*М.Н. Захарова, Д.Ю. Логунов, И.А. Кочергин, И.С. Бакулин  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва);  
ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии  
имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (Москва)*

---

Современные тенденции в развитии метода локальной фиксации потенциала:  
новые возможности для нейрофармакологии и нейробиологии 54

*А.Н. Шуваев, В.В. Салмин, Н.В. Кувачева, Е.А. Пожиленкова, А.Б. Салмина  
Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)*

---

Технология редактирования генома и возможности ее применения  
в клеточной нейробиологии 59

*А.С. Ветчинова, Е.В. Коновалова, Е.А. Лунев, С.Н. Иллариошкин  
ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва);  
Балтийский федеральный университет им. И. Канта (Калининград)*





Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
**Научный центр неврологии**



# Неврология XXI века

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ, ЛЕЧЕБНЫЕ И  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

(в 3-х томах)



Под редакцией  
члена-корреспондента РАН М.А. ПИРАДОВА  
профессора С.Н. ИЛЛАРИОШКИНА  
профессора М.М. ТАНАШЯН

# Дорогие друзья и коллеги!

**В** эти дни мы отмечаем 70-летний юбилей Научного центра неврологии – учредителя журнала «Анналы клинической и экспериментальной неврологии», одного из крупнейших медицинских научно-исследовательских центров нашей страны.

Такая дата – это всегда прекрасный повод подвести итоги и наметить новые перспективные направления развития. Все эти годы главным приоритетом Научного центра неврологии была разработка и внедрение в практику новых диагностических, лечебных и исследовательских технологий в самых разных областях клинических и фундаментальных нейронаук. Сегодня Центр обладает уникальным научным потенциалом – от современной структурно-функциональной нейровизуализации до новейших клеточных и молекулярно-генетических технологий, от эндоскопической нейрохирургии до различных методов нейромодуляции, от наиболее совершенных роботизированных технологий нейрореабилитации до экспериментальной нейротрансплантации. В связи с тем, что раскрытие механизмов функционирования мозга признано одной из наиболее значимых задач, стоящих перед современной наукой и обществом, востребованность теоретических и прикладных разработок Научного центра неврологии будет неуклонно возрастать.

В этом юбилейном номере журнала мы предлагаем читателям соприкоснуться с историей Научного центра неврологии и вспомнить выдающихся ученых, работавших в его стенах, а также ознакомиться с работами Научного центра неврологии и наших региональных сотрудничающих центров, посвященных ряду важнейших проблем неврологии, нейрохирургии, нейробиологии.

К своему юбилею коллектив Научного центра неврологии подготовил трехтомное руководство «Неврология XXI века: диагностические, лечебные и исследовательские техно-



гии» (под редакцией М.А. Пирадова, С.Н. Иллариошкина, М.М. Танашян, издательство «Атмо»). Этот капитальный труд посвящен современным наиболее информативным технологиям, применяемым сегодня в клинике нервных болезней и в экспериментальной неврологии. Книга рассчитана на неврологов, нейрохирургов, реабилитологов, нейрорентгенологов и врачей других специальностей, а также на ученых, работающих в различных областях фундаментальных нейронаук. Мы надеемся, что это руководство, как и материалы, опубликованные в настоящем номере журнала, не только окажутся полезными для нашей широкой читательской аудитории, но и послужат основой для новых, интересных совместных исследований.

Член-корреспондент РАН **М.А. ПИРАДОВ**,  
директор ФГБНУ «Научный центр неврологии»,  
главный редактор журнала



# Научному центру неврологии — 70 лет

**В** 2015 г. исполняется 70 лет со дня основания ведущей неврологической организации России — Научного центра неврологии. Сегодня мы вспоминаем славные страницы нашей истории, оцениваем свои нынешние достижения и пробуем заглянуть в будущее.

Древняя китайская мудрость гласит: «Дорога в тысячу ли начинается с первого шага». Первый шаг на нашем пути был сделан в апреле 1945 г. — в преддверии Великой Победы: в эти волнующие дни, наполненные радостным ожиданием счастья и новой жизни, на базе клиники нервных болезней Всесоюзного института экспериментальной медицины им. А.М. Горького был организован НИИ неврологии АМН СССР. Его директорами были: член-корреспондент АН СССР и академик АМН СССР Н.И. Гращенков (1945–1948 гг.), академики АМН СССР Н.В. Коновалов (1948–1966 гг.), Е.В. Шмидт (1966–1985 гг.), академики РАМН Н.В. Верещагин (1985–2003 гг.) и З.А. Сулина (2003–2014 гг.). С 2014 г. директором Центра является член-корреспондент РАН М.А. Пирадов.

С момента организации Научного центра (НИИ) неврологии в нем работали видные представители московской неврологической школы, последователи А.Я. Кожевникова, Л.О. Даркшевича, В.К. Рота, Г.И. Россолимо, Е.К. Сеппа — блестящие клиницисты и теоретики М.П. Чумаков, А.Р. Лурия, Н.А. Бернштейн, И.С. Глазунов, Р.А. Ткачев, О.А. Хондкариан, Л.Г. Членов, Э.И. Кандель, Л.М. Попова, Ф.В. Бассин и другие крупные ученые. Многие из них возглавили первые научные подразделения во вновь созданном институте.

Научные интересы Центра всегда отвечали требованиям времени и нуждам Отечества. В первые послевоенные годы ученые направили свои усилия на изучение травматических и инфекционных заболеваний нервной системы. Исследовались актуальные для тех лет проблемы неврозов военного времени, травм мозга и периферической нервной системы, речевых нарушений при травмах. С середины 1940-х гг. академик АМН СССР М.П. Чумаков



Первое здание Института неврологии АМН СССР на ул. Щипок.



Экспедиция в эндемичный по клещевому энцефалиту регион: испытание первых защитных костюмов (крайний слева — М.П. Чумаков).

с сотрудниками первыми в стране начали фундаментальные исследования по изучению этиологии, патогенеза, эпидемиологии и клиники энцефалитов. Работы в этом направлении велись совместно с Л.А. Зильбером и группой ленинградских ученых. Многие сотрудники института участвовали в легендарных экспедициях на Дальний Восток, в Сибирь, Крым, Белоруссию. М.П. Чумаков и его ученики открыли и описали омскую и крымскую геморрагические



Николай Иванович  
Гращенков



Николай Васильевич  
Коновалов



Евгений Владимирович  
Шмидт



Николай Викторович  
Верещагин



Зинаида Александровна  
Сулина



лихорадки, внесли весомый вклад в изучение японского и клещевого энцефалитов. С конца 1940-х гг. на протяжении более 10 лет значительные усилия сотрудников Центра были сконцентрированы на изучении острого эпидемического полиомиелита – тяжелого, зачастую фатального заболевания, поражающего и детей, и взрослых. При их непосредственном участии была разработана система мероприятий, принципиально изменивших ситуацию с этой болезнью, а созданные в дальнейшем вакцины позволили практически ликвидировать полиомиелит в нашей стране.



Любовь Михайловна  
Попова

В стенах Института впервые в СССР было создано новое направление в неврологии, связанное с исследованием критических состояний, – нейрореаниматология. Его основоположником стала профессор Л.М. Попова. Во время эпидемии полиомиелита Л.М. Попова благодаря своему исключительному энтузиазму организовала в большинстве республик СССР респираторные центры для лечения больных с неврогенными нарушениями дыхания. Это позволило спасти многие жизни, и прежде всего детские. Дальнейшее совершенствование лечения дыхательных нарушений привело к возможности его широкого применения при злокачественной миастении, ботулизме, полиневропатиях разного генеза, энцефаломиелитах, что обусловило беспрецедентное (15-кратное) снижение летальных исходов при тяжелых формах указанных заболеваний. В итоге это позволило не только поставить на ноги огромное число людей, ранее обреченных на смерть, но и продлить на годы и десятилетия жизнь больным, которые не были способны к самостоятельному дыханию. Уникальным не только в СССР, но и в мире является случай с 27-летней учительницей математики, перенесшей в 1950-х гг. полиомиелит и прожившей после этого в полном сознании на управляемом искусственном дыхании в стенах института более 23 лет. Именно сотрудники Института неврологии во главе с Л.М. Поповой стали медицинскими разработчиками первых отечественных аппаратов для искусственной вентиляции легких.

Углубленные исследования в области нейрореаниматологии на новом уровне продолжают и в наши дни. Изучаются и совершенствуются методы лечения дыхательной недостаточности при нарушениях центральной регуляции дыхания, расстройствах периферической иннервации дыхательной мускулатуры. Исследуются механизмы нарушения глотания и трофологический статус у больных, находящихся в критическом состоянии, особенности формирования полиорганной недостаточности при острых нарушениях мозгового кровообращения. Разработана система оказания неотложной медицинской помощи больным с тяжелыми формами ишемических и геморрагических инсультов, позволившая за последние годы снизить летальность от кровоизлияний в мозг в 1,9 раза, а от инфарктов мозга – в 1,6 раза. Внедрение высокоэффективного экстракорпорального метода лечения аутоиммунных заболеваний – программного плазмафереза –



Б.Н. Кловоский и его ученица И.В. Ганнушкина проводят экспериментальную операцию на кошке.

при таком тяжелейшем заболевании нервной системы, как синдром Гийена–Барре, более чем в 2 раза сократило длительность пребывания больных на искусственной вентиляции легких и время восстановления их способности к самостоятельной ходьбе. В 11 раз снижена летальность при тяжелых формах дифтерийной полиневропатии. Разработаны оригинальные методы гистохимической диагностики степени репаративных процессов в периферических нервах, предложены новые молекулярные биомаркеры течения полиневропатий.

Особую важность имеют работы в области диагностики смерти мозга – ключевой проблемы в решении вопросов трансплантации органов и тканей. Центром разработаны и усовершенствованы Национальные критерии диагностики смерти мозга, что позволило создать прочную основу для развития трансплантологии в нашей стране. Центром внесен большой вклад в изучение проблемы нарушений сознания у больных с неврологической патологией: разработаны диагностические и прогностические нейрофизиологические критерии нетравматического апаллического синдрома (персистирующего вегетативного состояния), разрабатываются уникальные подходы к лечению таких тяжелых пациентов.

Давние и богатые традиции в Центре имеет изучение сосудистых заболеваний мозга. Это научное направление многие годы возглавлял академик АМН СССР Е.В. Шмидт. Он был инициатором пионерских исследований патологии магистральных артерий головы, коренным образом изменивших существовавшие до этого представления по ряду принципиальных вопросов патогенеза нарушений мозгового кровообращения. На основании этих исследований были разработаны и внедрены в клиническую практику неврологических стационаров страны новые принципы лечения патологии магистральных артерий головы, в том числе и хирургические реконструктивные операции, которые успешно проводятся в институте с 1959 г.

В 1970-х гг. под руководством Е.В. Шмидта в Центре были начаты серьезные эпидемиологические исследования в области сосудистых заболеваний мозга. Это позволило впервые получить приоритетные данные о распространенности и структуре сосудистых поражений мозга в различных регионах России, организовать первые регистры инсульта. Разработанная в Центре концепция начальных

проявлений недостаточности кровоснабжения мозга как предикторов инсульта дала возможность ученым реализовать оригинальные программы профилактики острых нарушений мозгового кровообращения в одной из основных отраслей народного хозяйства страны — металлургической промышленности. Только на крупнейшем Новолипецком комбинате за 4 года с помощью этих программ удалось снизить заболеваемость металлургов на 45%.



Роман Александрович  
Ткачев

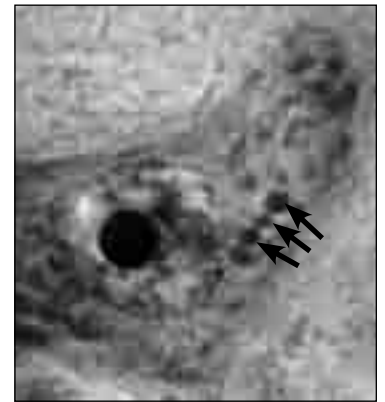
Продолжая широкомасштабные исследования, начатые Е.В. Шмидтом в области сосудистой патологии мозга, его ученик академик РАМН Н.В. Верещагин разработал ряд ключевых представлений о гетерогенности ишемических нарушений мозгового кровообращения, которые в наши дни стали общепризнанными. В результате многолетних нейроморфологических исследований было создано учение о структурно-функциональных уровнях сосудистой системы и патологии головного мозга при атеросклерозе и артериальной гипертензии, впервые в стране с конца 1970-х гг. стала применяться компьютерная рентгеновская томография, создана методология прямых КТ-морфологических сопоставлений, внедрены методы радионуклидного неинвазивного определения регионарного мозгового кровотока.

Теоретические экспериментальные исследования в области сосудистой патологии мозга, разработанные академиком АМН СССР Б.Н. Кловским, а затем его преемницей академиком РАМН И.В. Ганнушкиной, позволили выявить ряд важнейших патофизиологических закономерностей функционирования мозгового кровообращения, включая стабильность развития коллатерального кровообращения, значение ауторегуляции мозгового кровотока, роль вещества мозга как аутоантигена при цереброваскулярных заболеваниях, значение циркулирующей ДНК плазмы в патогенезе развивающихся гемореологических нарушений.

Новыми направлениями исследований в области сосудистой патологии мозга стали работы научного коллектива, возглавляемого академиком РАМН и РАН З.А. Суслиной, по проблемам кардионеврологии, гемореологии и гемостаза, тромбозиса и др., позволившие раскрыть ранее не известные механизмы развития нарушений мозгового кровообращения, изучить важнейшие теоретические и практические аспекты атеротромботического, кардиоэмболического, лакунарного и других вариантов ишемического инсульта, создать оригинальные отечественные фармпрепараты для профилактики нарушений мозгового кровообращения. Был открыт новый механизм развития ишемических инсультов по типу гемореологической микроокклюзии, сформулированы критерии клинической и лабораторной диагностики этого подтипа инфаркта мозга, разработано соответствующее его лечение, в том числе с использованием впервые созданной тромбоцитарной модельной тест-системы для оценки влияния биологически активных веществ на функции клеток крови *in vitro* и *in vivo*, а также индивидуальной чувствительности пациентов к действию вазоактивных и тромбоцитарных



Татьяна Львовна  
Бунина



Тельца Буниной в дегенерирующих мотонейронах спинного мозга (стрелки).

препаратов. Именно сотрудникам Центра принадлежит приоритет во внедрении в клиническую ангионеврологию почти четверть века назад малых доз аспирина. Созданное З.А. Суслиной в 1988 г. первое в стране специализированное отделение острых нарушений мозгового кровообращения с палатами интенсивной терапии стало моделью для всей системы отечественного здравоохранения.

Большое внимание в институте уделялось проблемам нейрорегенетики. Одним из известнейших советских неврологов Р.А. Ткачевым более 50 лет назад было создано отделение клинической нейрорегенетики, которое многие годы оставалось единственным в мире. Бесспорный приоритет ученых Центра в области нейродегенеративных заболеваний закреплен как в эпонимике современной неврологии («тельца Буниной», «болезнь Вильсона—Коновалова»), так и в описании ряда новых форм патологии и их генетическом картировании, что нашло отражение в Мак-Кьюсиковском Каталоге наследственных признаков человека и стало важным вкладом в изучение генома. Бурный рост знаний и появление новых технологий в молекулярной биологии и генетике на рубеже столетий сделали возможным проведение на качественно ином уровне фундаментальных исследований в области наследственных и дегенеративных заболеваний нервной системы. Изучены механизмы развития и молекулярная структура болезни Паркинсона, спиноцеребеллярных атаксий, первичной дистонии и других нейродегенеративных заболеваний в российской популяции, установлены спектры мутаций и базовые фенотипические корреляции при указанных формах патологии. Все это позволило разработать целостную систему медико-генетического консультирования и профилактики наследственных заболеваний нервной системы в нашей стране. В настоящее время Центром выполняется большой цикл работ, связанных с полногеномным анализом и созданием молекулярных панелей для высокопроизводительной ДНК-диагностики, проводятся исследования молекулярно-генетических основ предположенности к мультифакторной неврологической патологии — паркинсонизму, инсульту, эпилепсии и др.

Значительное место в научных исследованиях Центра занимает проблема демиелинизирующих заболеваний и «медленных» нейроинфекций. Впервые в мировой истории изучения БАС и спинальных амиотрофий академиками АМН СССР Л.А. Зильбером и Н.В. Коноваловым была выдвинута гипотеза о возможном значении персистирующих



Эдуард Израилевич  
Кандель

вирусов в этиологии отдельных форм этих заболеваний, в экспериментах на обезьянах предложено обоснование данной гипотезы, которая до настоящего времени оживленно обсуждается в мировой литературе. Т.Л. Бунина при морфологическом исследовании центральной нервной системы пациентов с БАС открыла специфические клеточные оксифильные включения, известные сегодня в мировой медицинской литературе как «тельца Буниной». Благодаря многолетней совместной работе сотрудников Центра с

Институтом эпидемиологии и микробиологии им. акад. Н.Ф. Гамалеи и Институтом молекулярной генетики РАН был создан первый в мире рекомбинантный геннотерапевтический препарат для лечения БАС («Адеваск»), проходящий в настоящее время интенсивные клинические исследования. Сотрудниками Центра установлены прогностические маркеры характера течения рассеянного склероза, разработаны оригинальные лабораторно-инструментальные методы диагностики (в том числе ранней), лечения и реабилитации пациентов с рассеянным склерозом, получен и обобщен уникальный опыт многолетней иммуномодулирующей терапии данного заболевания.

Тесное сотрудничество неврологов, нейрохирургов и сосудистых хирургов, начатое в Центре несколько десятилетий назад, продолжает постоянно приносить все новые успехи. Разработаны и уточнены показания к различным видам оперативных вмешательств при патологии магистральных артерий головы (каротидная эндартерэктомия, экстраинтракраниальные анастомозы, сложные реконструктивные операции), широко проводятся операции по стентированию сонных, позвоночных и подключичных артерий. Исторической заслугой Центра является развитие функциональной стереотаксической нейрохирургии, основоположником которой в нашей стране стал Э.И. Кандель. Им совместно с его учеником В.В. Переседовым был разработан оригинальный метод стереотаксического клипирования аневризм, запатентованный в США, Японии, Канаде, ФРГ и Великобритании, создан получивший широкое признание врачей стереотаксический комплекс – «аппарат Канделя–Переседова». Новый метод стереотаксического удаления внутримозговых гематом позволил снизить послеоперационную летальность более чем в 2 раза. Проведены важные исследования по вентрикулярному тромболитису при внутрижелудочковых кровоизлияниях, созданы оригинальные противомикробные вентрикулярные катетеры, постоянно совершенствуются методы стереотаксического лечения болезни Паркинсона, дистонии, тиков, эссенциального тремора, лицевой боли и других заболеваний.

К признанным достижениям Центра можно отнести разработку концепции пато- и морфогенеза гипертонической и атеросклеротической ангиоэнцефалопатий (с выделением и детальным изучением одного из ее вариантов – гипертонической лейкоэнцефалопатии), описание неврологии антифосфолипидного синдрома, разработку и внедрение в практику новых методов ранней реабилитации, в том числе



Объединенный Научный центр неврологии: клинический корпус Центра на Волоколамском шоссе, 80



Здание отдела исследований мозга (бывший Институт мозга) в пер. Обуха, 5.

при нарушениях высших психических функций, создание оригинальных высокоинформативных алгоритмов нейровизуализационной диагностики заболеваний нервной системы и др.

Успехам Центра в изучении заболеваний нервной системы на протяжении многих лет способствовали разработка и внедрение в практику базисных диагностических технологий – электронейромиографии (Ю.С. Юсевич), церебральной панангиографии (Л.К. Брагина), электроэнцефалографии (Е.А. Жирмунская, В.А. Чухрова), реоэнцефалографии (Х.Х. Яруллин), ультразвуковой доплерографии (Ю.М. Никитин), изотопных методов исследования мозгового кровотока (И.В. Мусатов, М.А. Пирадов), рентгеновской и однофотонно-эмиссионной компьютерной томографии (Н.В. Верещагин, Г.Я. Левина, С.Б. Вавилов, В.В. Борисенко), ДНК-диагностики (С.Н. Иллариошкин, И.А. Иванова-Смоленская) и др.

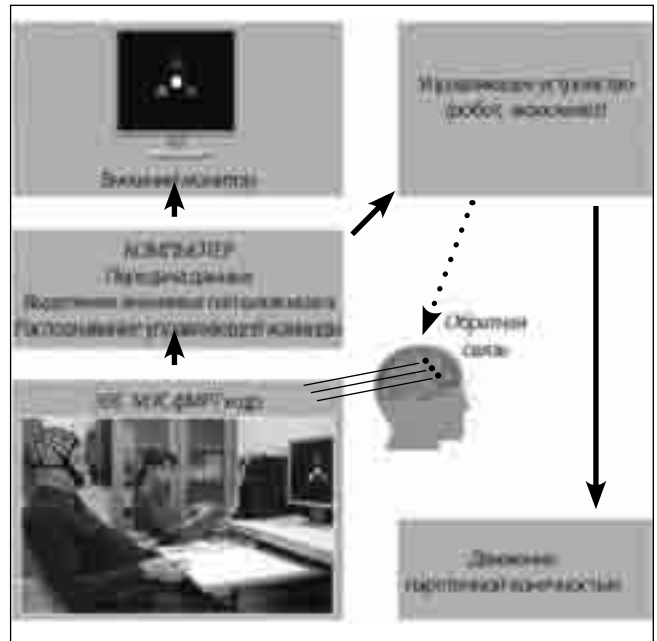
За последнее десятилетие Центр вышел на принципиально новый уровень своего развития, чему способствовало качественное переоснащение технологической и инструментальной базы, а также произошедшее в 2006 г. объединение с Институтом мозга РАМН – старейшим

научно-исследовательским учреждением страны, разрабатывающим фундаментальные проблемы современной нейронауки. Благодаря этому событию Научный центр неврологии стал уникальным учреждением, имеющим все возможности для быстрого и эффективного внедрения результатов экспериментальных и фундаментальных исследований в клиническую практику. Сотрудниками объединенного Центра внесен приоритетный вклад в изучение структурно-функциональных и нейрохимических механизмов пластичности мозга, функциональной межполушарной асимметрии, заложены основы новой области науки – гендерной нейроморфологии, разработаны новые уникальные экспериментальные модели заболеваний нервной системы, предложены инновационные подходы к клеточной и генной терапии паркинсонизма, болезни двигательного нейрона, церебральной ишемии и других экспериментально моделируемых состояний. Динамично развиваются исследования в области нейрокибернетики, функциональной синаптологии, нейробиоинформатики, возрастной физиологии мозга.

В последние годы выделяются исследования ученых Центра в области создания специализированных нейронных культур, получаемых путем репрограммирования фибробластов на основе технологии индуцированных плюрипотентных клеток. Такие культуры нейронов являются идеальной моделью для изучения молекулярных особенностей поражения нервной системы у конкретного пациента (донора фибробластов), подбора адресной терапии и разработки на новом уровне возможностей нейротрансплантации.

Особенно следует отметить приоритетные работы сотрудников Центра, направленные на создание новых методов нейрореабилитации на основе компьютерных, авиакосмических и роботизированных технологий, включая технологии нейрокомпьютерных интерфейсов, а также разработки в области прецизионной направленной нейромодуляции функциональных резервов и компенсаторных возможностей мозга. Это дает в руки ученых новые уникальные возможности воздействия на процессы пластичности мозга и управления ими, что означает революцию не только в нейронауках, но и в ряде тесно связанных с ними прикладных и критически важных сферах жизни общества (системы управления и принятия решений, образование, спорт высоких достижений и т.д.).

В числе наиболее значимых разработок и инноваций Научного центра неврологии, сделанных уже в XXI столетии, – развитие функциональной МРТ и других методик прижизненной оценки важнейших параметров жизнедеятельности головного мозга; разработка молекулярно-генетических, биохимических и протеомных биомаркеров социально значимых заболеваний нервной системы (паркинсонизма, инсульта, хронической цереброваскулярной недостаточности, метаболического синдрома и др.); разработка и внедрение новых технологий малоинвазивной эндоскопической нейрохирургии в лечении заболеваний нервной системы и позвоночника; раскрытие ведущих причин ишемического инсульта у лиц молодого возраста; создание системы фармакокинетического мониторинга в неврологии.



Принципиальная схема интерфейса «мозг-компьютер»

На протяжении многих лет Центр принимает активное участие в разработке и реализации государственных, отраслевых и международных программ в области неврологии. Центр является координатором Международной Ассоциации организаций в области неврологии и нейронов (МАНН), объединяющей ведущие неврологические учреждения и организации стран постсоветского пространства (России, Беларуси, Украины, Молдовы, Таджикистана).

Ученые Центра являются членами самых престижных российских и международных неврологических организаций. Научные исследования сотрудников Центра отмечены Ленинской премией, пятью Государственными премиями СССР, четырьмя премиями Правительства Российской Федерации, четырьмя премиями Президиума РАМН и многими другими российскими и международными наградами и знаками отличия. Изданы свыше 200 монографий, справочников и руководств, в том числе за рубежом, опубликованы тысячи статей, созданы и запатентованы новые устройства, способы диагностики, лечения и профилактики заболеваний нервной системы.

Научный центр неврологии по-прежнему остается одним из флагманов российской медицины, настоящим «неврологическим домом» для врачей и ученых нашей страны, приумножающим славу и традиции отечественной неврологической школы. Сотрудники Центра уверенно смотрят в будущее и готовы достойно встретить вызовы времени, связанные с появлением новых технологий в нейронауках, драматически меняющих лицо современной медицины в XXI столетии.

**М.А. ПИРАДОВ, С.Н. ИЛЛАРИОШКИН**



# Передовые технологии нейровизуализации

М.А. Пирадов, М.М. Танамян, М.В. Кротенкова, В.В. Брюхов, Е.И. Кремнева, Р.Н. Коновалов

ФГБНУ «Научный центр неврологии»

*Современные высокопольные магнитно-резонансные и мультиспиральные компьютерные томографы в настоящее время позволяют не только исследовать структурные изменения центральной нервной системы (ЦНС), но и оценивать церебральный метаболизм, кровоток и функциональное состояние тех или иных отделов головного мозга. В статье приводится обзор передовых технологий нейровизуализации: диффузионно-тензорной МРТ, взвешенных по магнитной восприимчивости изображений, функциональной МРТ, МРТ-морфометрии. Даются краткие физические основы данных методик, их фундаментальное и клиническое применение как в мировой практике, так и на базе ФГБНУ НЦН.*

**Ключевые слова:** нейровизуализация, передовые технологии, диффузионно-тензорная МРТ, взвешенные по магнитной восприимчивости изображения, функциональная МРТ, МРТ-морфометрия.

К концу XX века магнитно-резонансная томография (МРТ) и рентгеновская компьютерная томография (КТ) прочно вошли в клиническую практику, революционизировав подходы к диагностике заболеваний практически во всех областях медицины. Это в полной мере относится к неврологии, которая благодаря МРТ и КТ обогатилась уникальным опытом клинико-нейровизуализационных сопоставлений [5]. Появление высокопольных МР-томографов и сверхбыстрых импульсных последовательностей открыло перед нейровизуализацией новые диагностические возможности в оценке скорости диффузионных процессов, локального и магистрального кровотока, ликворотока в головном мозге и т.д. [10]. Дальнейшая эволюция нейровизуализации шла по пути повышения скорости получения изображений МРТ и КТ сканеров, создания новых технологий регистрации данных, алгоритмов их обработки. В настоящее время повсеместное распространение высокопольных магнитно-резонансных и мультиспиральных рентгеновских компьютерных томографов позволяет не только исследовать структурные изменения ЦНС, но и оценивать церебральный метаболизм, кровоток и функциональное состояние тех или иных отделов головного мозга. Такие методики как перфузионная МРТ (КТ), диффузионно-взвешенная и диффузионно-тензорная МРТ, воксельная МРТ-морфометрия, МР-спектроскопия, функциональная МРТ и др., еще недавно считавшиеся новейшими перспективными направлениями в нейрорентгенологии, сегодня широко используются в разнообразных фундаментальных и прикладных исследованиях. Благодаря этому нейровизуализация стала самостоятельной комплексной дисциплиной, во многом определяющей перспективы развития всей нейронауки.

## Диффузионно-тензорная МРТ

Одним из наиболее перспективных методов нейровизуализации является диффузионно-тензорная МРТ (ДТ-МРТ). Тензор диффузии представляет собой математическое описание величины и направления диффузии молекул воды в трехмерном пространстве и дает возможность получить данные о степени «неодинаковости» диффузии в среде (величине ее анизотропии) и направлении максимальной диффузии в каждом вокселе, что лежит в основе получения диффузионно-тензорных изображений (ДТИ) [28].

Фракционная анизотропия (ФА) отражает анизотропию («неодинаковость» свойств среды по различным направлениям внутри этой среды в противоположность изотропии) процесса диффузии, характеризует степень направленности структур и их целостность, принимает значения от 0 (изотропная диффузия) до 1 (полностью анизотропная диффузия) и может быть представлена в виде двумерной карты в серой шкале, интенсивность МР-сигнала на которой соответствует значениям ФА от 0 (черный) до 1 (белый). В белом веществе анизотропия высока, что связано с высокой диффузией молекул вдоль направления волокон и низкой в направлении, перпендикулярном их ходу. В сером веществе и цереброспинальной жидкости анизотропия стремится к нулю, т.к. диффузия молекул одинакова во всех направлениях. Одним из главных преимуществ ДТ-МРТ является ее относительная постоянность: при выполнении данной методики оцениваются основные направления диффузии молекул воды в зависимости от расположения волокон в пространстве; таким образом, возможно получить не только величину диффузии в данной точке, но и ориентацию волокон в трехмерном пространстве. В 1999 г. S. Pajevic и C. Pierpaoli была предложена цветная схема для представления трехмерной информации на двухмерных изображениях. Согласно этой схеме основные направления волокон кодируются тремя цветами: красным – волокна, идущие слева направо или справа налево; зеленым – волокна, идущие спереди назад и наоборот, синим – волокна, расположенные вертикально.

Существуют другие методы оценки диффузии, учитывающие негауссовское распределение функции движения молекул в биологической среде. Так, для этих целей применяют куртозис, или коэффициент эксцесса, который представляет собой меру остроты пика распределения случайной величины, степень ее «негауссовости»; для получения таких данных требуется 15 и более карт ДВИ. Эта методика позволяет вычислить такие индексы, как средний куртозис (усредненный куртозис по всем возможным направлениям диффузии), аксиальный куртозис (куртозис в направлении максимальной диффузии) и радиальный куртозис (усредненный куртозис по всем направлениям, перпендикулярным направлению максимальной диффузии) [19, 28, 29].

ДТ-МРТ активно применяется при различных заболеваниях головного мозга. Так, было показано, что степень повреждения главного двигательного проводящего пути имеет прогностическую ценность в отношении функционального исхода у пациентов в остром периоде ишемического инсульта. Определяемое с помощью этого метода изменение ипсилатерального кортикоспинального тракта является более точным прогностическим инструментом для оценки функционального исхода инсульта, чем исходное состояние или объем инфаркта у пациентов со средними и малыми инфарктами. Вовлечение проводящих путей головного мозга можно оценить уже к концу первой недели от момента развития ишемического инсульта с помощью метода ДТ-МРТ [18, 23].

Особую актуальность в настоящее время приобретает проблема идентификации так называемых «немых» инфарктов мозга, в т.ч. в контексте все возрастающей хирургической (кардио-, ангиохирургической) активности с проведением длительных анестезиологических пособий, нередко с неблагоприятным гемодинамическим фоном. Ни пациенты, ни неврологи при клиническом обследовании не обнаруживают признаков поражения мозга, однако показано, что в последующем их наличие коррелирует с когнитивными изменениями. Именно современные диффузионные методики позволяют своевременно обнаружить изменения вещества мозга, и МРТ в данном случае выступает в качестве маркера и предиктора последующих отсроченных изменений [17].

Другим примером активного внедрения данной нейровизуализационной методики в клинику является обнаружение сочетанного повреждения медиальной петли наряду с кортикоспинальным трактом, а также большим количеством интрамедуллярных очагов на уровне шейного отдела спинного мозга у пациентов с ремиттирующим рассеянным склерозом с впервые возникшим односторонним легким парезом кисти и асимметричным снижением вибрационной чувствительности [16].

Перспективными направлениями дальнейшего изучения диффузии молекул воды в веществе головного мозга является, во-первых, увеличение групп обследуемых больных с различными заболеваниями ЦНС для получения более достоверных результатов, а во-вторых, расширение использования других методик оценки полученной информации, например, диффузионного куртозиса.

### **Изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости (SWI)**

Новой последовательностью для визуализации геморрагических изменений в веществе мозга является susceptibility-weighted imaging (SWI) – импульсная последовательность, которая используется для получения изображений, взвешенных по магнитной восприимчивости. Эти изображения содержат информацию о любом веществе (например, деоксигенированной крови, гемосидерине, ферритине, кальции и др.), магнитная восприимчивость которых отличается от окружающих тканей.

При использовании режима SWI было показано, что данная последовательность обеспечивает специалистов дополнительной информацией при оценке множества заболеваний головного мозга. Так, данные SWI являются чрезвычайно полезными при оценке вещества мозга при диффузном ак-

сональном повреждении, когда точечные кровоизлияния в белом веществе можно «пропустить» при использовании КТ или традиционных МРТ методик [9]. Не менее чувствительными они являются для оценки травматических изменений в стволе мозга, что очень важно для долгосрочного прогноза. Кроме того, возможно использование SWI также для диагностики внутрижелудочковых и субарахноидальных кровоизлияний [3].

Ишемия вещества мозга в результате тромбоэмболии или атеросклеротического стеноза, приводящая к инфаркту мозга, также является интересным объектом исследования с помощью SWI. В случае наличия геморрагического компонента он может быть с легкостью обнаружен при помощи данной методики. Кроме того, снижение артериального кровотока приводит к увеличению количества дезоксигемоглобина и депонированию деоксигенированной крови в области снижения перфузии, что можно увидеть с помощью SWI. Причем эти данные совпадают с картами среднего времени транзита (МТТ) по данным перфузионных методик исследования, что свидетельствует о возможности совместного использования ДВИ и SWI в оценке зоны ишемической полутени (пенумбры) при остром ишемическом инсульте. С целью исследования локализации тромба также можно использовать SWI, т.к. свежие тромбоэмболы содержат большое количество дезоксигемоглобина и имеют гипointенсивный МР-сигнал [8] (рис. 1).

Описано использование SWI для оценки церебрального венозного тромбоза, т.к. в результате окклюзии синусов твердой мозговой оболочки увеличивается концентрация дезоксигемоглобина во впадающих в него венах, что характеризуется выраженным снижением МР-сигнала на SWI.

Такие сосудистые мальформации, как каверномы, венозные ангиомы и капиллярные телеангиоэктазии, характеризуются медленным кровотоком и, в отличие от артериовенозных мальформаций с быстрым кровотоком, легко могут быть пропущены при использовании традиционных МРТ-методик. SWI доказали свою высокую чувствительность в диагностике количества и распространенности таких мальформаций.

Особую значимость применение данной методики приобретает в ряде заболеваний, сопровождаемых избыточным накоплением железа (болезнь Паркинсона, хоря Гентингтона, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз,



рис. 1: МРТ головного мозга пациента с ОНМК по ишемическому типу: в режиме ДВИ (слева) определяется большой очаг повышенной интенсивности МР-сигнала в правом полушарии большого мозга; на бесконтрастной МР-ангиографии (в центре) отсутствует сигнал от кровотока по правым ВСА и СМА (стрелкой указана проекция правой СМА); в режиме SWI (справа) в проекции правой СМА наблюдается понижение интенсивности МР-сигнала, что соответствует внутриартериальному тромбу (указано стрелкой).

боковой амиотрофический склероз, синдром и болезнь Галлервордена-Шпатца), поскольку SWI может: а) визуализировать это явление на ранних стадиях; б) использоваться для мониторинга эффективности фармакотерапии. В тех случаях, когда избыточное накопление железа всего лишь вторичный феномен, SWI также может быть полезна в качестве маркера тяжести заболевания. У пациентов с рассеянным склерозом SWI может служить не только для оценки гипointенсивного МР-сигнала от подкорковых ядер, таламуса и от старых очагов демиелинизации в результате накопления в них железа, но и для визуализации венул, вокруг которых зачастую расположены эти очаги (теория нарушения венозного оттока).

Несмотря на то, что интерпретация SWI требует определенного опыта, несомненно, что активное использование этой методики в повседневной практике откроет новые пути и возможности ее применения.

### Функциональная МРТ (фМРТ)

Непрерывное техническое совершенствование метода МРТ позволило использовать его не только для исследования структурных особенностей головного мозга, но и для изучения его функционирования, что легло в основу функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ), позволяющей проводить картирование различных функциональных зон головного мозга.

фМРТ – методика МРТ, измеряющая гемодинамический ответ (изменение кровотока), связанный с активностью нейронов. фМРТ не позволяет увидеть электрическую активность нейронов напрямую, а делает это опосредованно, благодаря феномену нейроваскулярного взаимодействия. Данный феномен представляет собой региональное изменение кровотока в ответ на активацию близлежащих нейронов, поскольку при усилении их активности они нуждаются в большем количестве кислорода и питательных веществ, приносимых с током крови [37].

Существуют два основных метода проведения функциональной МРТ:

- 1 – с измерением функциональной активности коры головного мозга при выполнении определенного задания по сравнению с его активностью в покое/с контрольным заданием (так называемая task-fMRI);
- 2 – с измерением функциональной активности коры головного мозга в покое (так называемая resting state fMRI – RS-fMRI).

При проведении фМРТ-исследования с выполнением определенной парадигмы, задания, которые выполняет испытуемый, могут быть различными: двигательными, зрительными, когнитивными, речевыми и т.д. После проведения фМРТ полученные функциональные данные подвергаются статистическому анализу. Результатом является информация о зонах активации в виде цветных карт, наложенных на анатомические данные, и те же самые данные могут быть представлены в цифровом формате с указанием статистической значимости зоны активации, ее объема и координат ее центра в стереотаксическом пространстве.

фМРТ начинает активно применяться в практической медицине, в частности, для предоперационного картирования основных функций (двигательных, речевых) перед нейрохирургическими вмешательствами по поводу объемных об-

разований головного мозга или некурабельной эпилепсии. Как правило, оценивают моторные зоны для рук и ног, языка, а также речевые зоны – Брока и Вернике: их наличие, расположение относительно очага поражения, наличие гомологов в здоровом полушарии, компенсаторное усиление активации в противоположном полушарии большого мозга/вторичных зонах. Эта информация помогает нейрохирургам оценить риск послеоперационного неврологического дефицита, выбрать наиболее удобный и наименее травматичный доступ, предположить объем резекции.

ФГБНУ «Научный центр неврологии» был одним из первых учреждений на территории бывшего СССР, где была применена методика фМРТ у различных категорий неврологических больных, и работа в этом направлении успешно продолжается уже более 10 лет. Результатом этой многолетней работы явилась защита ряда диссертаций по данной методике и внедрение в клиническую практику алгоритмов проведения фМРТ-исследований у пациентов с ишемическим инсультом, рассеянным склерозом, нейродегенеративными заболеваниями [4, 11, 16].

Наиболее распространенными и широко изученными парадигмами у неврологических больных являются двигательные задания. Однако зачастую активное движение у таких пациентов ограничено или вообще невозможно (например, при тяжелых инсультах). В таком случае на замену активным движениям приходят пассивные парадигмы – статистически доказано совпадение зон региональной активации, а также объема активации, амплитуды и координат вокселей с максимальными значениями в первичной моторной и сенсорной коре (рис. 2) [6]. Применение подобной парадигмы пассивных движений указательным пальцем для исследования сенсомоторной системы больных с тяжелыми двигательными нарушениями при ишемическом инсульте позволило судить о прогностическом значении того или иного паттерна активации сенсомоторной сети для восстановления пациента. В свою очередь, данные о прямой зависимости степени пареза кисти от структурной целостности кортикоспинального тракта, оцененного по ФА с помощью ДТ-МРТ, позволяют предположить, что формирование и функционирование сенсомоторных сетей различно в условиях его разной сохранности [7]. Поэтому перспективными видятся дальнейшие работы в данной области с одновременным использованием методик фМРТ и ДТ-МРТ.

Особый интерес и в то же время особую сложность у пациентов с перенесенным инсультом представляет изучение процессов локомоции – таких, как ходьба. Для этого разрабатываются фМРТ парадигмы, в которых обследуемому предлагают вообразить необходимое движение [32, 34], или же используют различные приспособления и устройства для осуществления активного или пассивного движения конечностей в режиме ходьбы [26, 35]. В Научном центре неврологии впервые в России была проведена работа, целью которой явилось выявление особенностей функциональной реорганизации супраспинальных сенсомоторных систем, ответственных за локомоцию, у больных с ишемическим инсультом в различные периоды заболевания [11]. Была разработана оригинальная фМРТ парадигма (патент РФ № 2428931) с применением специального аппарата для стимуляции опорных зон стопы в режиме имитации медленной ходьбы (пассивная парадигма).

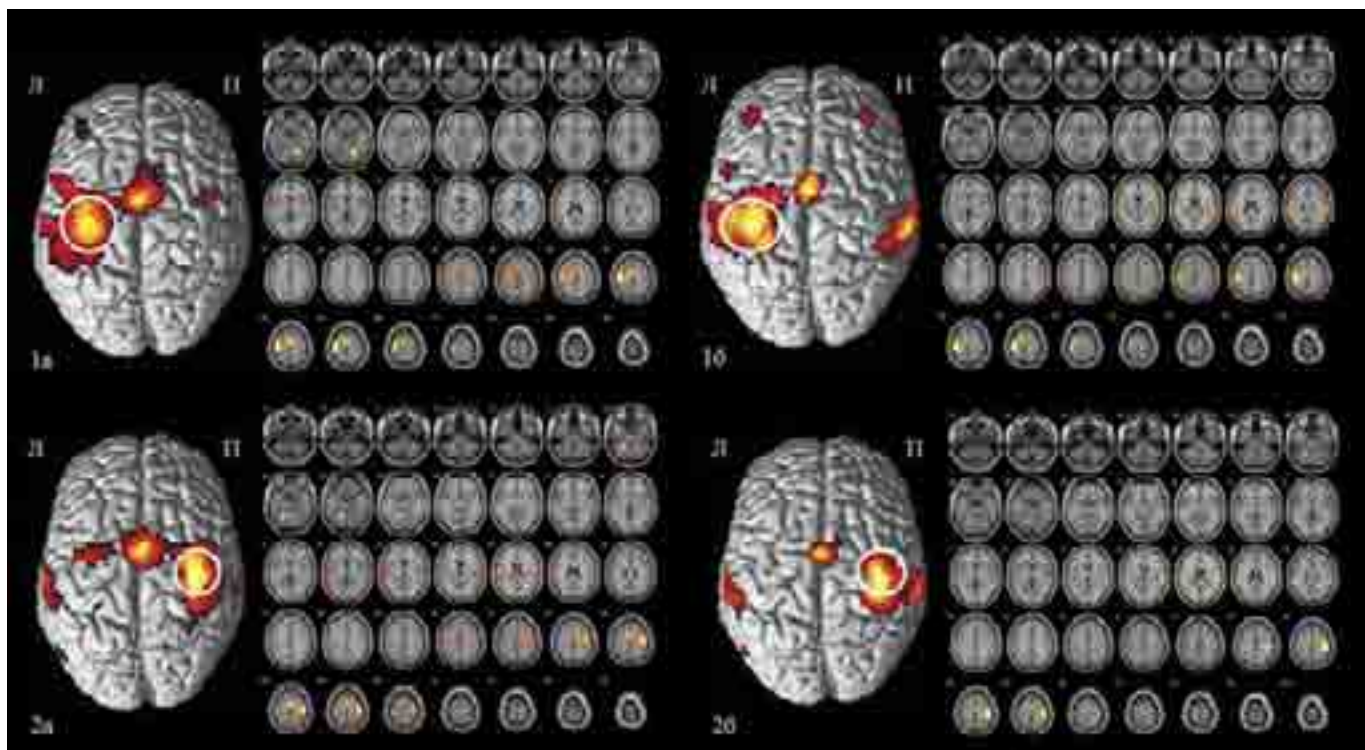


рис. 2: фМРТ карты активации группового анализа здоровых исследуемых при активном (а) и пассивном (б) движении правым (1) и левым (2) указательными пальцами, наложенные на анатомические 3D изображения и аксиальные срезы мозга. Белым кругом обведена зона первичной сенсомоторной коры. Л и П – левое и правое полушария большого мозга соответственно.

Нарушение речевых функций является вторым по значимости и распространенности постинсультным дефектом и возникает у 28–40% больных, перенесших инсульт. фМРТ-картирование речевых функций у здоровых обследуемых показало, что наряду с активацией речевых зон в левом полушарии происходит активация и их гомологов в правом полушарии; также наблюдается активация лимбической коры, подкорковых структур, островка, т.е. вовлечение в осуществление речевой функции больших территорий мозга [12]. Работы с применением фМРТ, посвященные изучению восстановления речи после инсульта, подтверждают гипотезу ученых Отдела исследований мозга Научного центра неврологии (ранее – Институт мозга РАН) о динамической локализации функций как основы их реорганизации в случаях локального повреждения элементов функциональной системы [1]. Так, было показано, что компенсаторная активность правого полушария находится в обратной зависимости от степени восстановления поврежденной зоны левого полушария. Если отсутствует активация в зоне повреждения, то в аналогичной зоне правого полушария возрастает активация, и наоборот, чем быстрее и эффективнее идет восстановление зоны повреждения, тем менее выражена активность в правополушарной гомологичной зоне. В других работах активация околоинфарктных зон доминантного полушария коррелировала с лучшим исходом речевых нарушений [38]. Это позволило авторам сделать вывод, что реорганизация левополушарных структур более эффективна, чем компенсаторные возможности только правого полушария.

В последние годы современные нейровизуализационные методики значительно расширяют существующие представления о патогенезе рассеянного склероза (РС). В част-

ности, в качестве одного из факторов, влияющих на восстановление функций (в первую очередь двигательных) при повреждении миелина и аксонов при РС, рассматривается кортикальная реорганизация. фМРТ позволяет оценить распределение зон активации головного мозга при выполнении определенных заданий, а также провести корреляцию между анатомической локализацией, степенью повреждения и функциональной активностью с развитием компенсаторных механизмов. Так, фМРТ исследование пациентов с ремиттирующим рассеянным склерозом во время обострения с использованием двигательной парадигмы сгибания-разгибания II–V пальцев кисти показало разнонаправленные изменения активации контралатеральной первичной сенсомоторной коры [16]. На основании полученных данных был разработан метод прогнозирования восстановления нарушений мелкой моторики кисти после обострения рассеянного склероза (патент РФ № 2545429).

Наряду с двигательными и речевыми функциями не менее важной является оценка когнитивных процессов при различных патологических процессах. В этом свете особый интерес представляет сочетание исследования препаратов, влияющих на когнитивные функции, и фарм-фМРТ (фармакологическая фМРТ). Например, при проведении подобных фарм-фМРТ исследований пациентам с хронической ишемией мозга для оценки эффективности проводимой нейропротективной терапии были выявлены разнонаправленные изменения размеров зон активации головного мозга и выделены паттерны реорганизации, коррелировавшие как с улучшением когнитивного профиля у данной группы больных, так и с отсутствием эффекта. В последнем случае осуществлялась замена препарата на другой, также с последующим фМРТ контролем эффекта его действия.



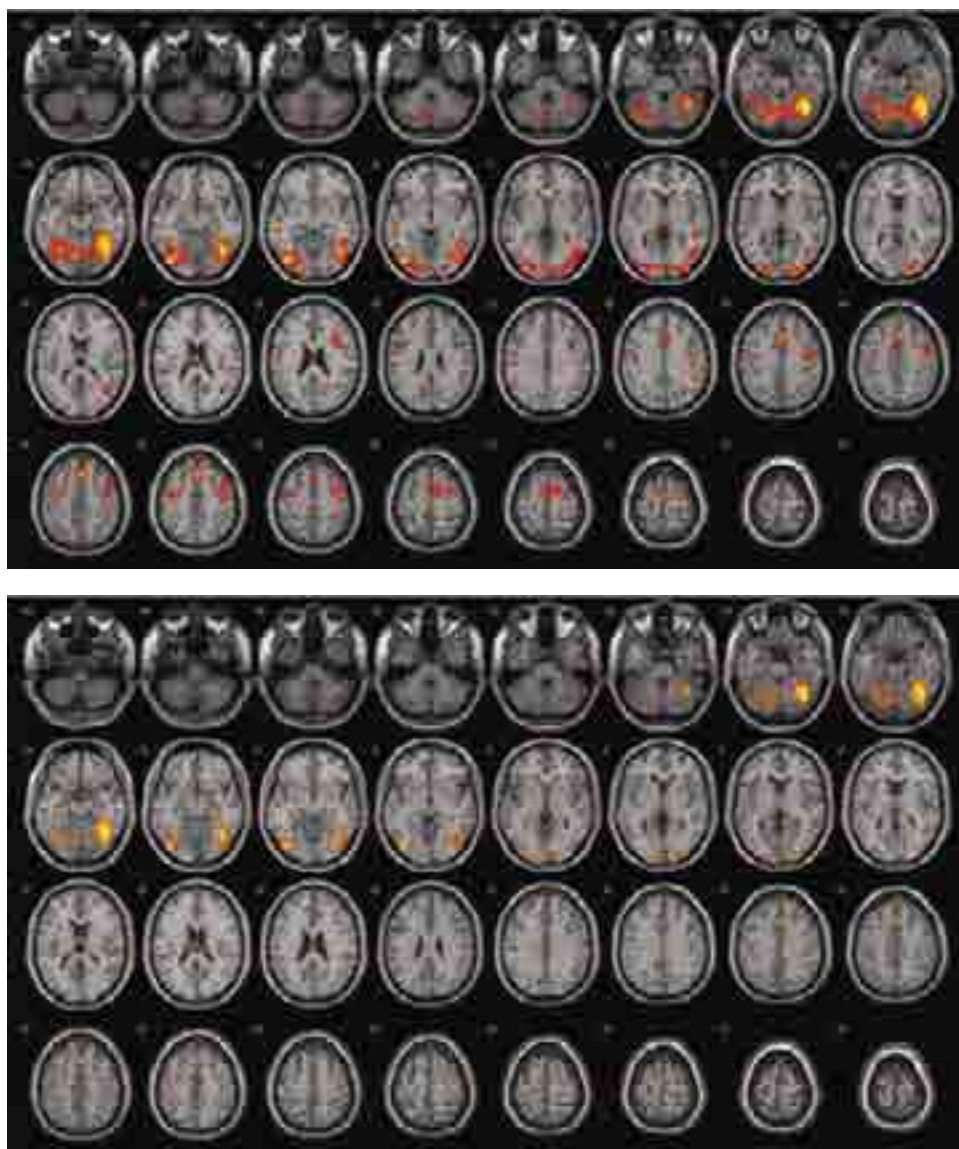


рис. 3: Изменения функциональной активности мозга после курса нейропротективной терапии: до лечения (вверху), после лечения (внизу).

Таким образом, проведение фарм-фМРТ головного мозга позволило провести персонализированный подбор терапии у пациентов с хронической ишемией мозга с выраженным положительным эффектом (рис. 3) [24].

Перспективным является фМРТ-картирование различных сетей головного мозга при расстройствах пищевого поведения (ожирение и анорексия как проявления континуума, входящего в метаболический синдром). Задача подобных исследований – раскрытие механизмов этих нарушений, а также последующее выделение зон(ы), к которой возможно применение стимуляционных методик (например, транскраниальной магнитной стимуляции) с целью нормализации регуляторных процессов [13].

В последние годы в мире для изучения основных сенсорных, эмоциональных и когнитивных процессов в норме и у пациентов с различными заболеваниями ЦНС все активнее применяется новая разновидность технологии фМРТ – фМРТ в состоянии покоя (фМРТп), при которой исследуемый не выполняет никаких заданий и спокойно лежит в МР-томографе с закрытыми глазами. Было показано, что

в состоянии покоя функциональные сети головного мозга не являются «молчащими», а наоборот, характеризуются высокой спонтанной активностью, которая высоко коррелирует между различными его участками [27]. Предположение о нейрональном происхождении регистрируемых при фМРТп феноменов подтверждается работами, в которых была продемонстрирована взаимосвязь (непрямая) между амплитудным профилем корреляций при фМРТп и электрофизиологическими показателями нейрональной активности [36].

Изучение фМРТп перспективно при различных заболеваниях с поражением ЦНС, с оценкой возможных изменений функциональной связности – например, при болезни Альцгеймера, депрессии, деменции, шизофрении [21]. В Российской Федерации до недавнего времени отсутствовал опыт применения фМРТп. В 2013 г. в России впервые на базе ФГБНУ «Научный центр неврологии» была проведена фМРТп в группе из 10 здоровых добровольцев [20]. В настоящее время проводится анализ паттерна фМРТп при ряде нейродегенеративных заболеваний (болезни Паркинсона – БП, болезни Гентингтона) с целью иссле-

дования возможных нейровизуализационных биомаркеров нейродегенеративного процесса. Так, в группе пациентов с БП [22] было показано, что при БП имеет место изменение, а возможно, и реорганизация паттерна активности в пределах сети пассивного режима работы головного мозга. Эти данные могут свидетельствовать как о текущем нейродегенеративном процессе, так и о наблюдающихся при этом компенсаторных явлениях нейропластичности. Выявленные изменения нейрональной активности потенциально могут являться биомаркерами нейродегенеративного процесса при БП.

### МРТ-морфометрия

В последние годы благодаря развитию новых вычислительных технологий и улучшению разрешающей способности изображений отмечается скачок интереса к МРТ-морфометрии. Первоначально нормальная морфология, а также наличие атрофии головного мозга оценивались качественно (описательно), например, в виде расширения желудочков, субарахноидальных пространств и уменьшения объема вещества мозга [15]. Следующим этапом явилась полуавтоматическая количественная оценка объема головного мозга без дифференцировки на серое (СВ) и белое вещество (БВ). В настоящее время в исследованиях используются различные МРТ измерения для оценки как глобального объема (головной мозг в целом), так и отдельных регионов.

Существует несколько методов морфометрии. Наибольшее распространение получил метод воксельной МРТ-морфометрии – самый простой и наиболее часто используемый способ, основанный на повоксельном сравнении СВ и БВ определенных областей головного мозга между группами или индивидуумами [26]. Весь процесс выполняется при помощи специальных программ и состоит из нескольких этапов: пространственной нормализации всех изображений к одному стереотаксическому пространству, сегментации нормализованных изображений на СВ и БВ, сглаживанию изображений СВ и БВ в итоге применения

статистического анализа для выявления значимых различий между двумя или более группами или индивидуумами.

Метод применяется практически при всем спектре неврологических поражений ЦНС. Так, у пациентов с ремиттирующим рассеянным склерозом при сравнении с группой контроля не было отмечено значимых различий между общим объемом серого и белого вещества, но были выявлены зоны статистически значимых различий регионально-го СВ, а именно подкорковых структур: таламуса с обеих сторон, лентиккулярных и хвостатых ядер обоих полушарий большого мозга [ 2, 14, 32].

При исследовании болезни Гентингтона было показано отсутствие статистической разницы между общими объемами СВ в обследованных группах (пациенты, асимптомные носители гена, контроль). Можно предположить, что изменения объемов конкретных структур происходят не за счет общей атрофии, а достаточно избирательно [25]. Основываясь на статистических характеристиках МРТ-морфометрии, следует подчеркнуть, что этот метод предназначен именно для группового анализа данных, хотя его также применяют и для индивидуального сравнения.

В своем обзоре мы описали лишь часть из всего существующего многообразия современных методик нейровизуализации. Однако становится понятно, что современное состояние развития лучевой диагностики позволило данной дисциплине выйти за рамки получения лишь макроскопических анатомических данных, констатации наличия или отсутствия патологических изменений и перейти на новый, более высокий уровень. Благодаря новейшим техническим достижениям в настоящее время мы можем оценить функциональные и метаболические процессы, протекающие в центральной нервной системе, приоткрыть завесу тайны работы головного мозга, *in vivo* увидеть цитоархитектуру мозга. Нейровизуализация в настоящее время занимает одно из ключевых мест в нейронауке, и в дальнейшем следует ожидать еще большее укрепление ее позиций в этой сфере.

### Список литературы

1. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И. Гендерные особенности цитоархитектоники речевых полей 44 и 45 мозга. Морфология. 2011; 140(6): 19–24.
2. Брюхов В.В., Куликова С.Н., Кротенкова М.В. и др. Современные методы визуализации в патогенезе рассеянного склероза. Анн. клинич. и эксперим. неврол. 2013; 3: 47–53.
3. Брюхов В.В., Максимова М.Ю., Коновалов Р.Н., Кротенкова М.В. Приоритеты визуализации внутримозговых гематом (обзор литературы). Медицинская визуализация. 2007; 6: 9–17.
4. Бушневая С.Н. Современные возможности исследования функционирования и реорганизации мозговых структур (обзор) / С.Н. Бушневая, А.С. Кадыков, М.В. Кротенкова. Неврологич. журн. 2007; 3: 37–41.
5. Верещагин Н.В., Брагина Л.К., Вавилов С.Б. и др. Компьютерная томография мозга. М.: Медицина, 1986.
6. Добрынина Л.А., Кремнева Е.И., Коновалов Р.Н., Кадыков А.С. Использование пассивной двигательной парадигмы в оценке сенсомоторной системы методом фМРТ. Анн. клинич. и эксперим. неврол. 2011; 3: 11–19.
7. Добрынина Л.А., Коновалов Р.Н., Кремнева Е.И., Кадыков А.С.

- МРТ в оценке двигательного восстановления больных с супратенториальными инфарктами. Анн. клинич. и эксперим. неврол. 2012; 2: 4–10.
8. Домашенко М.А., Максимова М.Ю., Лоскутников М.А. и др. Механизмы реперфузии при внутривенной тромболитической терапии у пациентов с ишемическим инсультом. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2012; 4: 53–58.
9. Захарова Н.Е., Корниенко В.Н., Потапов А.А., Пронин И.Н. Нейровизуализация структурных и гемодинамических нарушений при травме мозга. М., 2013.
10. Корниенко В.Н., Пронин И.Н. Диагностическая нейрорадиология. М.: Издательство ИП «Андреева Т.М.», 2006: 317–324.
11. Кремнева Е.И. Ишемический инсульт: функциональная реорганизация сенсомоторных систем при имитации локомоции. Автореферат дисс. ... канд. мед. наук. М., 2012.
12. Кремнева Е.И., Коновалов Р.Н., Кротенкова М.В. и др. Картирование речевых структур головного мозга у здоровых людей с помощью фМРТ. Лучевая диагностика и терапия, 2012; 2 (3): 65–72.
13. Кремнева Е.И., Суслин А.С., Говорин А.Н. и др. фМРТ-картирование алиментарных функциональных зон головного

- мозга. *Анн. клинич. и эксперим. неврол.* 2015; 9(1): 32–36.
14. *Кротенкова И.А., Брюхов В.В., Переседова А.В., Кротенкова М.В.* Атрофия центральной нервной системы при рассеянном склерозе: данные МРТ-морфометрии. *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова.* 2014; 2: 50–56.
  15. *Кротенкова М.В., Кугоев А.И., Коновалов Р.Н. и др.* Магнитно-резонансная томография при рассеянном склерозе. *Медицинская визуализация.* 2001; 1: 62–66.
  16. *Куликова С.Н.* Парез кисти при ремиттирующем рассеянном склерозе (динамическое клинич.-нейровизуализационное исследование). Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2013.
  17. *Кунцевич Г.И., Танащян М.М., Скрялев С.И. и др.* Интраоперационное мониторирование мозгового кровотока и состояние вещества головного мозга при открытых и эндоваскулярных вмешательствах в каротидной системе. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2011; 17 (3): 43–48.
  18. *Попова Т.А.* Супратенториальные инфаркты: клинич.-нейровизуализационная оценка восстановления двигательных функций. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2012.
  19. *Пронин И.Н., Фадеева Л.М., Захарова Н.Е. и др.* Диффузионная тензорная магнитно-резонансная томография и трактография. *Анн. клинич. и эксперим. неврол.* 2008; 2 (1): 32–40.
  20. *Селиверстов Ю.А., Селиверстова Е.В., Коновалов Р.Н., Иллариошкин С.Н.* Первый опыт применения функциональной МРТ покоя в России. В сб.: *Невский радиологический форум 2013:* СПб, 2013: 217.
  21. *Селиверстова Е.В., Селиверстов Ю.А., Коновалов Р.Н., Иллариошкин С.Н.* Функциональная магнитно-резонансная томография покоя: возможности метода и первый опыт применения в России. *Анн. клинич. и эксперим. неврол.* 2013; 7 (4): 39–44.
  22. *Селиверстова Е.В., Селиверстов Ю.А., Коновалов Р.Н. и др.* Реорганизация сети пассивного режима работы головного мозга у пациентов с болезнью Паркинсона. Анализ индивидуальных компонент. 2015; 2: 4–9.
  23. *Суслин А.С.* Диффузионно-взвешенная и перфузионная МРТ в остром периоде ишемического инсульта (клинич.-нейровизуализационное сопоставление). Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2008.
  24. *Танащян М.М., Бархатов Д.Ю., Глотова Н.А. и др.* Эффективность нейтропротекции у больных с хроническими цереброваскулярными заболеваниями. *Вестн. Росс. военно-мед. акад.* 2011; 3: 181–187.
  25. *Юдина Е.Н., Коновалов Р.Н., Абрамчычева Н.Ю. и др.* Опыт при-
  - менения МРТ-морфометрии при болезни Гентингтона. *Анн. клинич. и эксперим. неврол.* 2013; 7 (4): 16–19.
  26. *Belforte G., Eula G., Quaglia G., Appendino S. et al.* MR compatible device for active and passive foot movements. *Int. Journal of mechanics and control.* 2010; 11 (1): 29–38.
  27. *Buckner R.L., Vincent J.L.* Unrest at rest: default activity and spontaneous network correlations. *Neuroimage.* 2007; 37 (4): 1091–1096.
  28. *Coenen V.A., Schlaepfer Th.E., Allert N., Mädlar B.* Diffusion Tensor Imaging and Neuromodulation: DTI as Key Technology for Deep Brain Stimulation. *International Review of Neurobiology,* 2012, Volume 107 Elsevier: 207–234.
  29. *Descoteaux M., Poupon C.* “Diffusion-Weighted MRI”. In *Comprehensive Biomedical Physics,* edited by D. Belvic and K. Belvic, Elsevier, 2012.
  30. *Hori M., Fukunaga I., Masutani Y. et al.* Visualizing Non-Gaussian diffusion: Clinical Application of q-Space Imaging and diffusional Kurtosis Imaging of the Brain and Spine *Magn Reson Med Sci.* 2012; 11 (4): 221–233.
  31. *Jahn K., Deutschlandler A., Stephan T. et al.* Imaging human supraspinal locomotor centers in brainstem and cerebellum. *NeuroImage.* 2008; 39: 786–792.
  32. *Krotenkova I., Bryukhov V., Peresedova A., Morozova S.* Brain atrophy and neurological deficit in relapsing remitting multiple sclerosis: a 1-year follow-up study. *European Congress of Radiology. EPOS.* 2015; 1983.
  33. *La Fougere C., Zwergal A., Rominger A. et al.* Real versus imagined locomotion: A [18F]-FDG PET-fMRI comparison. *NeuroImage.* 2010; 50: 1589–1598.
  34. *Mechelli A., Price C.J., Friston K.J., Ashburner J.* *Voxel-Based Morphometry of the Human Brain: Methods and Applications.* *Current Medical Imaging Reviews,* 2005, 1.
  35. *Mehta J.P., Verber M.D., Wieser J.A. et al.* A novel technique for examining human brain activity associated with pedaling using fMRI. *J. of Neuroscience Methods.* 2009; 179: 230–239.
  36. *Nir Y., Mukamel R., Dinstein I. et al.* Interhemispheric correlations of slow spontaneous neuronal fluctuations revealed in human sensory cortex. *Nat. Neurosci.* 2008; 11 (9): 8.
  37. *Pasley B.N., Freeman R.D.* Neurovascular coupling. *Scholarpedia,* 2008; 3 (3): 5340.
  38. *Szaflarski J.P., Eaton K., Ball A.L. et al.* Poststroke aphasia recovery with functional magnetic resonance imaging and a picture identification task. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2010;

## State-of-the-art neuroimaging techniques

M.A. Piradov, M.M. Tanashyan, M.V. Krotenkova, V.V. Bryukhov, E.I. Kremneva, R.N. Konovalov

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia*

**Keywords:** neuroimaging, state-of-the-art techniques, diffusion tensor imaging, susceptibility-weighted imaging, functional MRI, MRI morphometry.

Modern high-field MRI and multispiral CT machines enable not only exploring structural changes in the central nervous system (CNS) but also evaluating cerebral blood flow, cerebral metabolic processes, and functional status of various brain regions. In this article, we review state-of-the-art neuroimaging techniques such

as diffusion tensor imaging, susceptibility-weighted imaging, functional MRI, and MRI morphometry. The article provides a brief description of the physical principles of these techniques as well as their application in research and clinical practice.

**Контактный адрес:** Кремнева Елена Игоревна – канд. мед. наук, науч. сотр. отд. лучевой диагностики ФГБНУ НЦН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-22-05, факс: +7 (495) 490-41-71, e-mail: in-ray@yandex.ru;

Пирадов М.А. – член-корр. РАН, директор ФГБНУ НЦН;

Танашян М.М. – зам. директора по научной и лечебной работе ФГБНУ НЦН;

Кротенкова М.В. – зав. отд. лучевой диагностики ФГБНУ НЦН;

Брюхов В.В. – науч. сотр. отд. лучевой диагностики ФГБНУ НЦН;

Коновалов Р.Н. – старш. науч. сотр. отд. лучевой диагностики ФГБНУ НЦН.



# Новый подход к профилактике инсульта в России

В.Л. Фейгин, Ю.Я. Варакин, М.А. Кравченко, М.А. Пирадов, М.М. Танамян, Е.В. Гнедовская, Л.В. Стаховская, Н.А. Шамалов, Р. Кришнамурти, Р. Бхаттачарджи, П. Пармар, Т. Хуссейн, С. Барке-Колло

Национальный институт инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете (Окленд, Новая Зеландия); Университет Вашингтона (Вашингтон, США); ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России (Новосибирск); ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва); НИИ цереброваскулярной патологии и инсульта и кафедра фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии медико-биологического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва)

Значительные потери от инсульта в России наряду с постоянным увеличением стоимости медицинской помощи этим больным требуют новых, более эффективных стратегий его профилактики. Эти стратегии должны включать в себя повышение осведомленности населения о симптомах и факторах риска инсульта, а также предоставление легко доступной информации о способах коррекции факторов риска. Предлагаемое приложение для смартфонов «Рискометр™ инсульта» является именно таким инструментом, разработанным на основе научных данных, признанным международным медицинским сообществом и представленным в том числе и на русском языке. Приложение позволяет рассчитать риск инсульта у взрослых на ближайшие 5 или 10 лет, определить индивидуальные факторы риска инсульта, а также предложить возможные способы их коррекции. Широкомасштабное использование данного приложения в Российской Федерации будет реально способствовать снижению заболеваемости инсультом среди населения.

**Ключевые слова:** инсульт, профилактика, факторы риска, риск инсульта, приложение «Рискометр™ инсульта».

В настоящее время инсульт является одним из наиболее социально значимых заболеваний в мире [15]. Несмотря на то, что связанная с инсультом смертность в нашей стране снизилась за последние два десятилетия, инсульт продолжает оставаться одной из ведущих причин смертности в России [8]. Число случаев инсульта и суммарный ущерб от него все еще более высоки по сравнению со многими другими странами, в частности, со странами ЕС. На рис. 1 представлены данные о динамике смертности от инсульта и такому общепризнанному показателю ущерба от заболевания, как DALYs (количество лет полноценной жизни, утраченных вследствие болезни) [11, 15].

В то же время известно, что до 90% случаев инсульта потенциально могут быть предотвращены при своевременном и эффективном проведении профилактических мероприя-

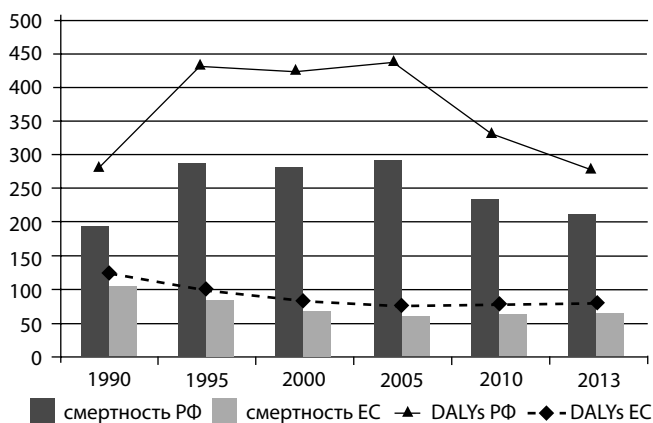


рис. 1: Смертность от инсульта (на 100 тыс.) и DALYs (на 1 тыс.) в РФ по сравнению со странами ЕС (GBD 2013).

тий [12]. Несмотря на то, что существуют хорошо известные рекомендации по профилактике инсульта, транзиторных ишемических атак и других основных неинфекционных заболеваний (НИЗ) [9], они преимущественно направлены на лиц из групп высокого риска, которые составляют относительно небольшую долю из тех, у кого в будущем разовьется инсульт [5, 7, 9, 14]. Хорошо известны данные о том, что большая часть смертей от сердечно-сосудистых заболеваний происходит на фоне их умеренного и низкого риска [4]. Поэтому только широкомасштабная реализация профилактических мероприятий, направленных на все население той или иной страны, может привести к реальному снижению потерь от инсульта.

В России существуют образовательные и просветительские инициативы по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в целом, и в т. ч. инсультов [1]. Одним из основных факторов, усугубляющих проблему инсульта, является низкая осведомленность населения о факторах риска и способах их коррекции [16]. Особенно это актуально для лиц с низким или умеренно повышенным риском инсульта, среди которых вероятность добиться контроля над факторами риска даже выше, чем у лиц с высоким риском, т.к. имеющиеся изменения еще не зашли слишком далеко.

Методы комплексной оценки риска инсульта обычно доступны только специалистам [6, 10], направлены на старшие возрастные группы (>55 лет) и, как правило, не адаптированы для применения в международном масштабе. В результате люди, не попадающие в категорию «высокого риска», не имеют доступа к этой информации.

Популяризация среди населения и практикующих врачей такого понятия, как «риск инсульта», и предоставление информации о возможностях его снижения могут повысить мотивацию пациентов к выполнению профилактических рекомендаций. Существенное снижение риска инсульта



рис. 2: Приложение для смартфонов «Рискометр™ инсульта».

в популяции представляется вполне вероятным, если информация о способах профилактики инсульта будет легко доступной, а рекомендации адаптированными для применения в повседневной жизни.

С целью устранения пробела в области информирования о риске инсульта команда из Национального института инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом Университете в Новой Зеландии в сотрудничестве с Stroke Education (charitable) Trust и AUT Enterprises Ltd. разработали мобильное приложение/программу «Рискометр™ инсульта» (Stroke Riskometer) (рис. 2).

Приложение «Рискометр™ инсульта» позволяет рассчитать риск инсульта на ближайшие 5 или 10 лет для любого человека в возрасте старше 20 лет на основе его ответов на короткий опросник. Вопросы в этом приложении преимущественно базируются на общепринятом алгоритме оценки сердечно-сосудистого риска, разработанном по данным Фремингемского исследования [6]. В то же время, с учетом накопленных за последнее время научных данных, в приложение были добавлены некоторые новые факторы риска, позволяющие учесть: особенности диеты, уровень физической активности, индекс массы тела, употребление алкоголя, стресс, деменцию или когнитивные нарушения, отягощенную наследственность, черепно-мозговые травмы, этническую принадлежность. Большая часть этих дополнительных факторов риска была идентифицирована в качестве важных предикторов инсульта в исследовании INTERSTROKE [12] и включена для повышения точности прогностического алгоритма, используемого приложением. Информация, необходимая для осуществления оценки риска с помощью приложения, не требует лабораторных исследований, таких как результаты анализа крови и многих других. В процессе расчета риска пользователю предоставляются пояснения через «всплывающие меню» для того, чтобы помочь ему лучше понять вопросы и получить дополнительную информацию. Алгоритм «Рискометра™ инсульта» в результате тестирования показал, что по своей чувствительности и специфичности он сопоставим с Фремингемской шкалой и методикой QSTROKE, созданными ранее для оценки риска инсульта [13], но значительно более прост в применении.

Важно отметить, что наряду с расчетом абсолютного риска приложение также предоставляет информацию об относительном риске возникновения инсульта по сравнению с лицами такого же возраста и пола, как и пользователь, но не имеющими факторов риска. Мы полагаем, что это очень важный дополнительный профилактический прием, т.к. он позволяет обратить внимание на проблему риска инсульта у людей, которые имеют относительно низкий абсолютный риск, что может показаться им незначимым. В то же время их относительный риск инсульта может быть повышен в несколько раз.

Существует две версии приложения «Рискометр™ инсульта». Lite (базовая) – бесплатна и предоставляет пользователям информацию по их абсолютному и относительному рискам инсульта, а также краткий перечень выявленных у них индивидуальных факторов риска. Версия Pro (профессиональная) имеет минимальную стоимость и позволяет получить более детальную информацию об этих факторах риска, а также информацию о способах их коррекции (включая видеовыступления экспертов в области профилактики). Пользователи могут также сохранить результаты тестирования и отслеживать изменение индивидуального риска инсульта, пройдя повторное тестирование в будущем.

Базовая версия «Рискометра™ инсульта» была одобрена Всемирной организацией по борьбе с инсультом и Всемирной федерацией кардиологов. Обе версии приложения были одобрены Всемирной федерацией неврологии, Международной ассоциацией неврологии и эпидемиологии и Российской национальной ассоциацией по борьбе с инсультом (НАБИ). К настоящему времени приложением начали пользоваться уже в 70 странах мира, и этот список расширяется день ото дня. Предложенное решение в виде приложения/программы для смартфонов означает, что потенциальная доступность данного инструмента очень велика. Учитывая, что 1,75 млрд чел. в мире имеют смартфоны [17], люди по всему миру получают возможность легкого доступа к персонализированной информации о факторах риска инсульта. Расчет риска инсульта может быть также осуществлен для нескольких членов семьи, например, для по-

жилых родителей (которые могут не быть пользователями смартфонов). Для обеспечения доступности приложения для как можно большего количества людей в настоящее время приложение переводится на 20 наиболее распространенных языков мира. Русская версия приложения была отредактирована проф. Ю.Я. Варакиным, к.м.н. М.А. Кравченко, проф. М.А. Пирадовым и к.м.н. Е.В. Гнедовской из ФГБНУ «Научный Центр Неврологии» (Москва).

Мы полагаем, что «Рискометр™ инсульта» не только представляет собой важный инструмент для распространения знаний об инсульте, его факторах риска и способах их коррекции, но также может стать революционным методом проведения международных эпидемиологических исследований в области основных неинфекционных заболеваний (инсульт, ИБС, сахарный диабет и др.). Мобильное приложение дает возможность легко и экономически эффективно собрать данные от потенциальных участников исследования в мировом масштабе, что невозможно при обычных методах исследования, таких как личный или телефонный опрос. Последнее обновление «Рискометра™ инсульта» включает в себя исследовательский компонент, который позволит пользователям принять участие в проспективном исследовании риска инсульта (первоначально на срок не менее 12 мес с возможностью последующего продолжения). Участие в исследовании совершенно добровольное, и при желании пользователь может дать согласие на участие в исследовании через приложение «Рискометр™ инсульта». В этом случае его данные будут сохранены в защищенной базе данных проекта. Через 12 мес участникам исследования будет направляться напоминание о повторении тестирования. Всем пользователям гарантируется конфиденциальность их данных, которая обеспечивается использованием современных методов информационной безопасности.

Интегрирование исследовательского проекта в приложение потенциально позволяет получить ценные научные данные. Во-первых, существует недостаток знаний о распространенности инсультов (и их факторах риска) во многих частях мира, особенно в регионах с низким уровнем доходов. Внедрение и использование «Рискометра™ инсульта» по всему миру может потенциально обеспечить более четкое представление о реальной распространенности инсультов (и групп разной степени риска) на глобальном уровне. Необходимость в таких данных существует не только в мире в целом, но и в России. Проведенные исследования по эпидемиологии инсульта [2, 3] указывают на то, что объективная оценка этой проблемы в масштабах страны остается не до конца решенной задачей. Простая экстраполяция данных, исходя из результатов локальных исследований, представляется не всегда оправданной вследствие существенных различий по многим параметрам между регионами РФ. Содействие участию в глобальном исследовании может предоставить уникальные данные о распространенности инсульта, ишемической болезни сердца, деменции, диабета и ассоциированных факторах риска в различных регионах России и других русскоговорящих странах. В будущем планируется проведение перекрестных и проспективных когортных, а также рандомизированных контролируемых исследований, направленных на первичную и вторичную профилактику всех основных неинфекционных заболеваний.

Другой важной целью исследовательского компонента приложения является повышение точности алгоритма прогнозирования риска на основе анализа собранных данных и результатов проспективного наблюдения. Основанные на этой информации дальнейшие версии приложения будут иметь более высокую точность прогнозирования риска инсульта, например, для отдельных стран или этнических групп. Мы также планируем развивать локальные программы исследований, направленные на конкретные регионы. В будущем мы планируем использовать результаты проекта, чтобы принять участие в разработке прогностических алгоритмов для других неинфекционных заболеваний, таких как диабет, деменция и ишемическая болезнь сердца.

Необходимо сказать, что одно из потенциальных ограничений данного проекта – это степень качества и точности ответов участников, которая является важным фактором во всех исследованиях, основанных на самоотчетах. Для определения степени точности собранных данных, планируется проведение исследования по перекрестному сравнению ответов, предоставленных пользователями, с результатами медицинского обследования. Для этого планируется формирование случайных подгрупп участников в нескольких странах (включая Россию) и при получении их согласия будет проведено перекрестное сравнение предоставленных при тестировании ответов с медицинскими записями или результатами объективного обследования.

## Заключение

Инсульт продолжает оставаться одной из важнейших медико-социальных проблем как в России, так и в мире. Имеющиеся в настоящее время методы профилактики и лечения являются малоэффективными для лиц с низким или умеренным риском инсульта, среди которых и возникает большая часть инсультов. «Рискометр™ инсульта» реализован на популярной и быстро распространяющейся программной платформе для смартфонов и позволяет любому человеку выполнить индивидуальную оценку риска инсульта. Он может использоваться для информирования о риске инсульта значительной части населения нашей страны, а также внести свой вклад в снижение потерь от него, равно как и от других неинфекционных заболеваний в России.

**Благодарности.** Работа была поддержана финансированием от факультета здравоохранения и экологии, Оклендский Технологический университет (AUT), университетский исследовательский офис AUTEL и AUT, Окленд, Новая Зеландия.

**Заявление о возможном конфликте интересов.** Соавторы из Оклендского Технологического Университета (В.Л.Ф., Р.К., Р.Б., П.П., Т.Х.) заявляют, что средства, полученные от продажи профессиональной версии приложения «Рискометр™ инсульта», будут использованы на дальнейшие научные исследования и создания программ образования для профилактики инсульта. Никто из других авторов не имеет конфликта финансовых интересов.

## Список литературы

1. Ощепкова Е.В. О федеральной целевой программе «Профилактика и лечение АГ в Российской Федерации». Профилактика заболеваний и укрепление здоровья 2002; 1: 3–7.
2. Стаховская Л.В., Клочихина О.А., Богатырева М.Д., Коваленко В.В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009–2010). Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова 2013; 113 (5): 4–10.
3. Сулина З.А., Варакин Ю.Я. Клиническое руководство по ранней диагностике, лечению и профилактике сосудистых заболеваний головного мозга. М.: МЕД пресс-информ, 2015.
4. Brindle P., Emberson J., Lampe F. et al. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. BMJ 2003; 327 (7426): 1267.
5. Cox J.L., Carr B., Vallis T.M. et al. A novel approach to cardiovascular health by optimizing risk management (ANCHOR): a primary prevention initiative examining the impact of health risk factor assessment and management on cardiac wellness. Can J Cardiol 2011; 27 (6): 809–817.
6. D'Agostino R.B., Wolf P.A., Belanger A.J. et al. Stroke risk profile: adjustment for antihypertensive medication. The Framingham Study. Stroke 1994; 25 (1): 40–43.
7. Ebrahim S., Taylor F., Ward K. et al. Multiple risk factor interventions for primary prevention of coronary heart disease. Cochrane Database Syst Rev. 2011; 1: CD001561.
8. Feigin V.L., Forouzanfar M.H., Krishnamurthi R. et al. Global and regional burden of stroke during 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet 2014; 383 (9913): 245–254.
9. Goldstein L.B., Bushnell C.D., Adams R.J. et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke 2011; 42(2): 517–584.
10. Hippisley-Cox J., Coupland C., Brindle P. Derivation and validation of QStroke score for predicting risk of ischaemic stroke in primary care and comparison with other risk scores: a prospective open cohort study. BMJ 2013; 346: 2573.
11. Naghavi M., Wang H., Lozano R. et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet 2015; 385 (9963): 117–171.
12. O'Donnell M.J., Xavier D., Liu L. et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. Lancet 2010; 376 (9735): 112–123.
13. Parmar P., Krishnamurthi R., Ikram M.A. et al. The Stroke Riskometer(TM) App: Validation of a data collection tool and stroke risk predictor. International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society 2015; 10 (2): 231–244.
14. Simons L.A., Simons J., McManus P. et al. Discontinuation rates for use of statins are high. BMJ 2000; 321 (7268): 1084.
15. Vos T., Barber R.M., Bell B. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet 2015; 386 (9995): 743–800.
16. Wartak S.A., Friderici J., Lotfi A. et al. Patients' knowledge of risk and protective factors for cardiovascular disease. Am J Cardiol. 2011; 107 (10): 1480–1488.
17. eMarketer Smartphone Users Worldwide Will Total 1.75 Billion in 2014: Mobile users pick up smartphones as they become more affordable, 3G and 4G networks advance 2014 [cited 2014 12 Dec]; Available from: <http://www.emarketer.com/Article/Smartphone-Users-Worldwide-Will-Total-1.75-Billion-2014/1010536>.

## A new approach for stroke prevention in Russia

V.L. Feigin, Yu.Ya. Varakin, M.A. Kravchenko, M.A. Piradov, M.M. Tanashayan, E.V. Gnedovskaya, L.V. Stakhovskaya, N.A. Shamalov, R. Krishnamurthi, R. Bhattacharjee, P. Parmar, T. Hussein, S. Barker-Collo

*National Institute for Stroke and Applied Neurosciences at AUT University (Auckland, New Zealand); University of Washington (WA, USA); Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk); Research Center of Neurology (Moscow); Research Institute of Cerebrovascular Pathology and Stroke (Moscow); N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow)*

**Keywords:** stroke, prevention, risk factors, risk of the stroke, Stroke Riskometer App.

The growing burden of stroke in Russia, along with the increasing cost of healthcare calls for new, more effective strategies for stroke prevention. These strategies should include increasing awareness of stroke symptoms, awareness of risk factors, and provision of easily available information on means of modifying risk factors. The Stroke Riskometer App is exactly such a tool,

available in Russian, for adult individuals to calculate their risk of stroke over the next 5 and 10 years and identify their individual stroke risk factors and linking them to possible means of modifying these risk factors. The use of this App could reduce the risk of stroke for individuals in the Russian population and contribute to significant reduction in stroke burden in Russia.

**Acknowledgements.** The work was supported by funding from the Faculty of Health and Environmental Studies, Auckland University of Technology (AUT), AUTEL and AUT University Research Office, Auckland, New Zealand

**Disclosure.** Co-authors from the AUT University (VLF, RK, RB, PP, TH) declare that funds resulting from the sale of the professional version of the Stroke RiskometerTM app go into further research and education for stroke prevention. None of the other authors has competing financial interests.



**Контактный адрес:** Варакин Юрий Яковлевич – докт. мед. наук, проф., глав. науч. сотр. лаб. эпидемиологии и профилактики заболеваний нервной системы ФГБНУ «Научный центр неврологии». 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-24-21, e-mail: in-epid@yandex.ru;

Фейгин В.Л. – директор Национального института инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете; проф. Университета Вашингтона; проф. ГБОУ ВПО НГМУ (Новосибирск);

Кравченко М.А. – и.о. рук. лаб. эпидемиологии и профилактики заболеваний нервной системы ФГБНУ НЦН;

Пирадов М.А. – член-корреспондент РАН, директор ФГБНУ НЦН;

Танашян М.М. – зам. директора по научной и лечебной работе ФГБНУ НЦН, рук. 1-го неврол. отд. ФГБНУ НЦН;

Гнедовская Е.В. – зам. директора по научно-организационной работе и развитию ФГБНУ НЦН;

Стаховская Л.В. – директор НИИ цереброваскулярной патологии и инсульта, проф. каф. фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии медико-биологического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

Шамалов Н.А. – зав. отделением НИИ цереброваскулярной патологии и инсульта, проф. каф. фундаментальной и клинической неврологии и нейрохирургии медико-биологического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова;

Кришнамурти Р. (Krishnamurthi R.) – ст. науч. сотр. Национального института инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете;

Бхаттачарджи Р. (Bhattacharjee R.) – координатор исследований Национального института инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете;

Пармар П. (Parmar P.) – биостатистик Национального института инсульта и прикладных нейронаук в Оклендском Технологическом университете

Хуссейн Т. (Hussein T.) – программист отдела Информационных и коммуникационных технологий Оклендского Технологического университета;

Барке-Колло С. (Barker-Collo S.) – ст. науч. сотр., нейропсихолог Школы психологии в Оклендском Технологическом университете.

# Сравнительное клинико-нейровизуализационное исследование венозных и артериальных инсультов

В.В. Машин, Л.А. Белова, М.Ю. Моисеев, А.Н. Прошин

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

*Обследованы 84 пациента с клиническими проявлениями острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК). У 20 пациентов методами МРТ диагностирован венозный инфаркт, у 64 пациентов – артериальный инфаркт. Венозные инсульты чаще развивались у пациентов в относительно молодом возрасте и у женщин. Клиническая картина венозного инсульта характеризуется: подострым, медленным развитием клинических проявлений; преобладанием общемозговой симптоматики над очаговой; наличием симптомов, свидетельствующих о венозной церебральной дисциркуляции; наличием тенденции к относительно быстрому регрессу общемозговой симптоматики. По данным МРТ, при венозном инсульте локализация инфаркта не совпадает с «бассейнами» кровоснабжения магистральных интракраниальных артерий; форма очагов неправильная, а контуры неровные и нечеткие; визуализируются признаки церебральной венозной дисциркуляции, интракраниального венозного застоя и вазогенного отека.*

**Ключевые слова:** венозный инсульт, неврологический дефицит, функциональное состояние, магнитно-резонансная томография.

**В**енозный инсульт (ВИ) считается «относительно неизвестным цереброваскулярным заболеванием» [14] и встречается, согласно рекомендациям American Heart Association/American Stroke Association, в 0,5–1% всех случаев инсульта [15]. В 78% случаев венозные инсульты происходят у пациентов в возрасте до 50 лет и в 3 раза чаще они встречаются у женщин [9].

К заболеваниям и состояниям, которые являются факторами риска развития церебрального венозного тромбоза, относятся тромбофилии, онкологические и воспалительные заболевания, послеоперационный период, травмы, обезвоживание, инфекции ЦНС, артериовенозные мальформации, полицитемия, тромбоцитемия, анемия, васкулиты, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, саркоидоз, заболевания щитовидной железы [7, 8, 13, 15].

Уровень инвалидизации при данной патологии составляет примерно 5–10% пациентов, уровень смертности – от 3 до 15% [10].

ВИ морфологически отличается от артериального инсульта (АИ) тем, что полнокровие, стаз, диapedезные кровоизлияния, а также мелкие очаги некроза, характеризующие его, не сопровождаются патологическими изменениями артерий области поражения. Ишемия носит вторичный характер, связанный с внешне обусловленной констрикцией сосудов, питающих область стаза [3], а отек, который при ВИ имеет более выраженный характер, является фактором, располагающим к кровоизлиянию. Патологические механизмы повреждения мозга в остром периоде ВИ характеризуются полнокровием и вазогенным отеком в отличие от ишемии и цитотоксического отека при АИ [4]. Проявления вазогенного отека развиваются раньше, чем цитотоксического, и некоторые авторы причисляют это к особенностям ВИ [6].

Характерной для ВИ считается ранняя геморрагическая трансформация, связанная с венозным застоем и развитием вазогенного отека мозга [6], которая регистрируется в 3 раза чаще при ВИ, чем при АИ [1, 16].

Диагностика ВИ базируется на клинических данных и подтверждении методами нейровизуализации [15]. МРТ головного мозга в сочетании с МР-венографией являются наиболее чувствительными методами исследования для выявления церебральных венозных тромбозов в острой, подострой и хронической фазах [8, 11, 12].

Определение венозного характера инсульта ведет к изменению лечебной тактики [5], поэтому возникновение подозрений на данное заболевание уже на этапе оценки клинической картины является важной составляющей диагностики, а последующая нейровизуализация должна обеспечить верификацию диагноза [4].

Исходя из всего вышесказанного, **целью** нашего исследования было определение клинико-нейровизуализационных особенностей венозного инсульта.

## Пациенты и методы

Обследовано 84 пациента с клиническими проявлениями ОНМК. В их числе – 32 мужчины в возрасте от 41 до 80 лет (средний возраст  $60 \pm 10,9$  лет) и 52 женщины в возрасте от 48 до 80 лет (средний возраст  $62 \pm 10,3$  лет). Средний возраст всех больных составил  $61 \pm 10,4$  лет. У 20 пациентов из 84 методами МРТ диагностирован ВИ, у оставшихся 64 пациентов – АИ.

Оценку тяжести неврологической симптоматики у пациентов проводили при помощи шкалы инсульта Национального института здоровья NIHSS (National Institutes of Health

Stroke Scale). Для определения активности жизнедеятельности применялся индекс Бартел (ВИ). Для оценки функционального состояния больных использовалась шкала Рэнкин (RS). Субъективная оценка интенсивности головных болей проводилась с помощью Визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) (Huskisson, 1974).

Верификация диагноза выполнялась методами нейровизуализации во всех случаях. МРТ проводилась на аппарате Siemens Magnetom Symphony, оснащенный сверхпроводящей магнитной системой с силой поля 1,5 Тесла. Томограммы получали по стандартной методике в аксиальной, сагиттальной и корональной проекциях с помощью импульсных последовательностей T2, T1, программ FLAIR и DW. Определялись локализация и контуры очага, отношение к бассейнам интракраниальных сосудов, признаки объемного воздействия и смещение срединных структур головного мозга, размеры повреждения в режимах T2 ВИ, FLAIR, DW и по данным ADC-карт ( $b=0, 500, 1000$ ), характеристика отека в очаге (вазогенный или цитотоксический) по данным измерения МР-сигнала DW и ADC-карт.

Для анализа томограмм использовались данные в DICOM 3.0 формате. Измерение прямолинейных дистанций проводили при помощи штатных программных средств графической станции «eFilm Workstation 3,4».

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0. Полученные данные представлены в виде [Me (25%; 75%)].

## Результаты и обсуждение

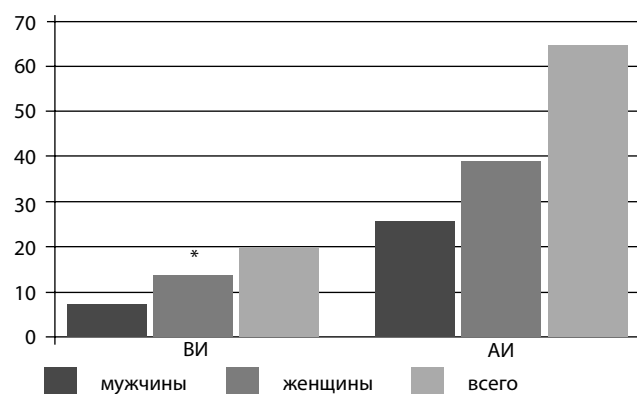
Диагноз ВИ основывается на клинических данных, подтвержденных МРТ-изображениями. Клиническая картина связана с повышением внутричерепного давления, обусловленного нарушением венозного оттока, и очаговой неврологической симптоматикой. На характер и прогноз заболевания, как правило, влияет возраст и пол человека.

Возраст в исследуемых группах оказался статистически значимо отличным в группе пациентов с ВИ [52,7 (41; 64) лет] по сравнению с АИ [65,3 (45; 80) лет] ( $p<0,05$ ). Таким образом, ВИ в отличие от АИ развивается у пациентов в более молодом возрасте.

При распределении пациентов по полу выявлено преобладание женщин по сравнению с мужчинами в группе ВИ ( $p<0,05$ ) (рис. 1).

Дебют клинических проявлений происходил в сравниваемых группах неодинаково: подострое, медленное развитие заболевания в течение нескольких суток (более 48 час) отмечено при ВИ в 80%, а в группе пациентов с АИ – в 25% случаев.

Жалобы на головную боль одинаково часто встречались у пациентов с ВИ и АИ ( $p>0,05$ ). Головная боль является наиболее распространенным симптомом ВИ, она присутствовала у всех больных. При ВИ она носила диффузный характер и прогрессировала в течение нескольких дней или даже недель. У пациентов с ВИ в 63,4% случаев головная боль ограничивалась затылочной областью, у 34,2% больных была диффузной, у 12,4% – распирающей. В 52,8% случаев головная боль была тупой, монотонной. Больные с АИ чаще предъявляли жалобы на головные боли «по типу обруча» (33,4%), давя-



Примечание: \* –  $p<0,05$  – статистически значимые различия.

рис. 1: Распределение пациентов по полу.

щего (44,9%) или сжимающего (51,1%) характера. Однако выраженность головных болей при ВИ была значительно больше, чем у больных с АИ: При ВИ она составила 7,5 (3; 9) баллов, при АИ – 4,9 (1; 7) баллов по ВАШ ( $p<0,05$ ).

При оценке «венозных» жалоб [16] установлено, что в группе ВИ по сравнению с АИ данные симптомы встречались статистически значимо чаще ( $p<0,05$ ) (табл. 1).

Очаговая неврологическая симптоматика была обусловлена топикой фокального поражения головного мозга. Каких-либо присущих только ВИ очаговых симптомов отмечено не было. Тем не менее у трех больных начало заболевания характеризовалось нарушением когнитивных функций: близкие обратили внимание на снижение в течение нескольких недель психической активности, ухудшение ориентировки в пространстве и во времени, «странное поведение» пациентов. Это побудило их обратиться за помощью, и при МРТ-исследовании были выявлены признаки симметричного церебрального венозного тромбоза в области таламуса.

Известно, что нарушение дренажной функции из глубокой венозной системы может привести к двустороннему таламическому инфаркту с изменением в уровне сознания без очаговой неврологической симптоматики. При этом нейропсихологические нарушения могут носить персистирующий характер. Восстановление при этом, как правило, благоприятное [2, 16].

Статистически значимых различий выраженности неврологического дефицита и функционального состояния пациентов сравниваемых групп не получено ( $p>0,05$ ) (табл. 2). При оценке течения ВИ отмечена тенденция к более быстрому регрессу очаговой и общемозговой симптоматики [15].

таблица 1: «Венозные» жалобы.

Жалобы	ВИ (n=20)	АИ (n=64)
	n (%)	n (%)
Симптом «тугого воротника»	8 (80)*	14 (43,75)
Симптом «высокой подушки»	9 (90)*	15 (46,9)
Симптом «песка в глазах»	9 (90)*	17 (53,1)
Пастозность лица и век в утренние часы	8 (80)*	13 (40,6)

Примечание: \* –  $p<0,05$  – статистически значимые различия с АИ.

таблица 2: Оценка клинического состояния пациентов [Me (25%; 75%)].

Критерии		ВИ (n=20)	АИ (n=64)
Шкала NIHSS, баллы	при поступлении	9,0 (6; 13)	11 (7; 16)
	при выписке	4,0 (2; 5)	6,5 (3; 9)
Шкала Рэнкин, баллы	при поступлении	4,0 (3; 6)	5,5 (3; 8)
	при выписке	3,0 (1; 4)	3,5 (1; 6)
Индекс Бартел, баллы	при поступлении	38,0 (12; 68)	41 (10; 71)
	при выписке	75 (45; 90)	65 (40; 90)

При выписке нами оценивались качественные показатели по четырем критериям: улучшение, без динамики, ухудшение и смерть. Имела место тенденция к более частому улучшению состояния при ВИ (80%) в сравнении с АИ (65,7%). Однако статистически значимых различий по этим критериям между группами не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Состояние свертывающей системы крови с признаками гиперкоагуляции зарегистрировано в группе пациентов с ВИ несколько чаще (24,5%), чем в группе пациентов с АИ (15%), но статистически это различие не было значимым ( $p > 0,05$ ).

Оценка свертывающей системы, тест на D-димеры являются важным исследованием для пациентов с подозрением на тромботические нарушения. В то же время, если отрицательный результат практически исключает тромбоз, то положительный результат может быть вызван как тромбозом, так и другими возможными причинами. Поэтому МРТ головного мозга в сочетании с МР-венографией являются наиболее чувствительными методами исследования для выявления церебральных венозных тромбозов в острой, подострой и хронической фазах [1, 6, 8, 11, 12].

У больных с ВИ очаговое поражение мозга локализовалось в 30% случаев в лобно-теменной области и в 70% – в теменной и затылочной долях мозга.

При АИ локализация очага поражения зависела от зоны васкуляризации пораженной артерии: при окклюзии СМА очаг локализовался в теменной доле (18,8%), в теменно-височной области (31,3%) и в подкорковых ядрах (18,8%); при окклюзии ПМА – в лобно-теменной области (15,6%); при окклюзии ЗМА – в затылочной доле (9,4%).

В 80% случаев на томографических изображениях (T2 ВИ, FLAIR) форма очагов при ВИ была неправильной, а контуры неровными и нечеткими. Только в двух случаях отмечены относительно ровные контуры очагов ВИ. При АИ контуры очагов в подавляющем большинстве были ровные и четкие.

Неоднородный характер очагов со смешанным сигналом при ВИ наблюдался в 70% случаев. На фоне в целом гиперинтенсивного очага имели место гипоинтенсивные участки. Гипоинтенсивные участки локализовались как в центре очагов (57%), так и по периферии (43%). При АИ МР-сигнал был преимущественно однороден (в 75% случаев).

Размеры очага инфаркта были определены на всех полученных в исследовании диагностических томографических изображениях (T2 ВИ, FLAIR, DWI, ADC). Размеры очага при ВИ составляли 7,5 (1,85; 15,8) см<sup>2</sup>, при АИ –

таблица 3: Анатомические варианты строения поперечных и сигмовидных синусов.

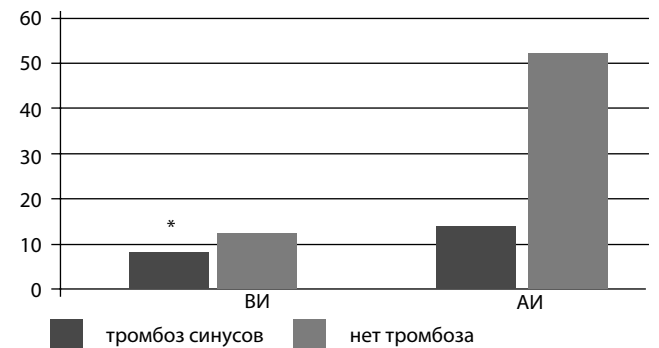
Показатели МРТ	ВИ (n=20)	АИ (n=64)
	n (%)	n (%)
Симметрия ветвей поперечных и сигмовидных синусов	–	4 (6,25)
Анатомические варианты строения	20 (100)	60 (93,75)
Асимметрия	всего	8 (40)
	D>S	6 (75)»
	S>D	2 (25)
Гипоплазия	всего	12 (60)
	правые синусы	4 (33,3)
	левые синусы	8 (66,6)#

Примечание: # – статистически значимые различия с гипоплазией правого поперечного синуса; » – статистически значимые различия по сравнению с категорией S>D.

таблица 4: Размеры венозных структур при МРА интракраниальных вен [Me (25%;75%)].

Показатели МРТ	ВИ (n=20)	АИ (n=64)
Верхний сагиттальный синус (мм)	6,3 (5,2; 7,5)	6,3 (5,1; 7,3)
Поверхностные мозговые вены (мм)	4,6 (3,4; 5,6)*	3,8 (2,6; 4,9)
Прямой синус (мм)	2,8 (1,8; 3,5)*	1,8 (1,1; 2,4)
Правый поперечный синус (мм)	6,5 (3,0; 10,4)	6,8 (2,9; 10,5)
Левый поперечный синус (мм)	6,0 (3,2; 9,1)	6,1 (2,8; 9,4)
Правый сигмовидный синус (мм)	7,9 (3,9; 12,0)	7,7 (4,0; 11,4)
Левый сигмовидный синус (мм)	7,0 (3,7; 10,8)	7,2 (3,8; 11,0)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  – статистически значимые различия показателей между группами.



Примечание: \* –  $p < 0,05$  – статистически значимые различия между двумя группами.

рис. 2: Тромбоз поперечных и сигмовидных синусов в хронической стадии.

9,5 (1,5; 30,5) см<sup>2</sup>. Статистически значимых различий в группе ВИ по сравнению с АИ в отношении площади очага инфаркта мозга не выявлено ( $p > 0,05$ ). Отличительной особенностью очага поражения при ВИ явилось присутствие признаков вазогенного отека, по данным МРТ, в первые сутки заболевания. По данным МР-режимов DWI и ADC-картирования, в 80% случаях у пациентов с ВИ наблюдались признаки вазогенного отека в первые сутки заболевания, у больных с АИ – в 39,4% ( $p < 0,05$ ).

При анализе результатов методик МРТ, ориентированных на исследование венозного русла (табл. 3), различные варианты строения системы церебрального венозного оттока статистически значимо чаще определялись при ВИ (100%) по сравнению с АИ (66,6%) ( $p < 0,05$ ). Гипоплазия левого



рис. 3: Больной Г., 58 лет. Венозный инфаркт правой лобной доли. Режимы T2 и FLAIR. В белом и сером веществе правой теменной доли определяется зона неправильной формы, с неровными и нечеткими контурами, с гетерогенным сигналом во всех режимах с признаками наличия участков гемосидерина (геморрагическая трансформация), окруженная зоной вазогенного отека.



июль 2013



август 2013



октябрь 2013

рис. 4: Больной Г., 58 лет. Венозный инфаркт правой лобной доли. Динамическое наблюдение (через 1, 2 и 4 мес). В области инфаркта отмечается постепенный регресс вазогенного отека и формирование кистозно-глиозных изменений.



рис. 5: Больная В., 38 лет. Венозный инфаркт левой теменной доли.

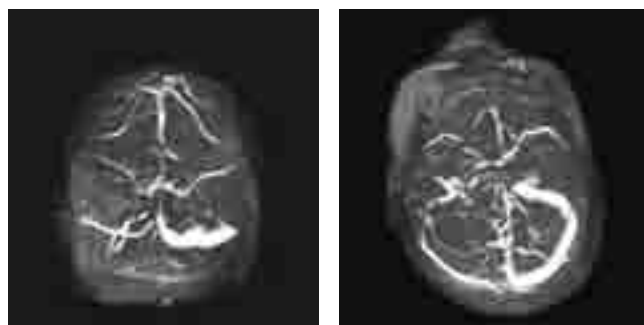


рис. 6: Больная В., 38 лет. Тромбоз v. Trolard слева в ранней хронической стадии, выраженная асимметрия церебральной венозной сети с преобладанием вен левой гемисферы, гипоплазия поперечного и сигмовидного синусов справа, правой внутренней яремной вены. МР-венография (2D TOF методика).



поперечного синуса по сравнению с гипоплазией правого поперечного синуса встречалась чаще во всех группах, при этом различия достигали статистической значимости в группах ВИ и АИ ( $p < 0,05$ ).

При асимметрии поперечных синусов преобладание правых поперечных синусов над левыми выявлено в обеих сравниваемых группах ( $p < 0,05$ ). Уменьшение диаметра поперечных и сигмовидных синусов сопровождалось компенсаторным расширением контралатеральных венозных структур (табл. 4). Изменения размеров сигмовидных синусов полностью соответствовали таковым поперечных синусов. Симметричное строение поперечных и сигмовидных синусов статистически значимо чаще сохранялось у больных с АИ ( $p < 0,05$ ).

Поверхностные вены мозга (в т.ч. вены Роланда, Тролара и Лаббе) у пациентов с ВИ были статистически значимо шире, чем у больных с АИ ( $p < 0,05$ ). В группе ВИ установлено также увеличение размеров прямого синуса ( $p < 0,05$ ) (табл. 4).

Тромбозы поперечных и сигмовидных синусов в хронической стадии были визуализированы статистически значимо чаще при ВИ, чем при АИ ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Характерные МР-томограммы пациентов с ВИ показаны на рис. 3–6.

Представленные результаты получены в рамках выполнения Ульяновским государственным университетом государственного задания Минобрнауки России.

## Выводы

1. Венозные инсульты чаще развиваются у пациентов в относительно молодом возрасте и у женщин.

## Список литературы

1. *Ананьева Н.И., Трофимова Т.Н.* КТ- и МРТ-диагностика острых ишемических инсультов. СПб, 2006.
2. *Белова Л.А., Машин В.В.* Венозная дисциркуляция при хронических формах цереброваскулярной патологии. Ульяновск: УлГУ, 2015.
3. *Неймарк Е.З.* Тромбозы внутричерепных синусов и вен. М: Медицина, 1975.
4. *Семенов С.Е., Шатохина М.Г., Нехорошева А.Н. и др.* Роль и КТ- и МР-признаки фокального полнокровия в развитии и течении инсульта. Бюллетень сибирской медицины. 2012; 5: 23–26.
5. *Суслина З.А., Кистенев Б.А., Смирнова И.Н.* Тромбофлебит внутренней яремной вены и сигмовидного синуса в остром периоде стволового ишемического инсульта. Неврол. журн. 1997; 1: 33–37.
6. *Труфанов Г.Е., Фокин В.А., Пьянов И.В. и др.* Рентгеновская компьютерная и магнитно-резонансная томография в диагностике ишемического инсульта. СПб.: ЭЛБИ-СПб. 2005: 192.
7. *Atoozgar F., Ronksley P.E., Sauve R.* Hormonal contraceptives and cerebral venous thrombosis risk: a systematic review and meta-analysis. Front. Neurol. 2015 (epub ahead of print).
8. *Boussier M.G.* Cerebral venous thrombosis: diagnosis and management. J. Neurol. 2000; 247: 252–258.
9. *Coutinho J.M., Ferro J.M., Canhão P. et al.* Cerebral venous and sinus thrombosis in women. Stroke. 2009; 40: 2356–2361.

2. Для венозного инсульта характерно подострое, медленное развитие клинических проявлений.
3. В клинической картине венозных инсультов общемозговая симптоматика преобладает над очаговой. Каких-либо присущих только венозным инсультам очаговых симптомов не выявлено. Очаговый неврологический дефицит обусловлен топикой фокального поражения головного мозга.
4. У больных венозным инсультом в клинической картине заболевания существенное место занимают симптомы, свидетельствующие о венозной церебральной дисциркуляции.
5. В течении венозных инсультов отмечается тенденция к относительно быстрому регрессу общемозговой симптоматики.
6. Локализация венозного инфаркта не совпадает с бассейнами кровоснабжения магистральных интракраниальных артерий, наиболее часто поражается теменно-затылочная область.
7. Форма очагов инфаркта мозга при венозном инсульте, как правило, неправильная, а контуры неровные и нечеткие. МР-сигнал очага венозного инфаркта в большинстве случаев гетерогенный.
8. У пациентов с венозным инсультом достоверно чаще визуализированы МР-признаки церебральной венозной дисциркуляции интракраниального венозного застоя:
  - расширение поверхностных мозговых вен;
  - варианты строения поперечных и сигмовидных синусов (асимметрия и гипоплазия);
  - сочетание с расширением размеров одноименных синусов;
  - увеличение размеров прямого синуса с противоположной стороны;
  - хронические тромбозы синусов.
9. Отличительной особенностью венозного инсульта является присутствие признаков вазогенного отека, по данным МРТ, в первые сутки заболевания.

10. *Dentali F., Gianni M., Crowther M.A., Ageno W.* Natural history of cerebral vein thrombosis: a systematic review. Blood. 2006; 108: 1129–1134.
11. *Leach J.L., Fortuna R.B., Jones B.V. et al.* Imaging of cerebral venous thrombosis: current techniques, spectrum of findings, and diagnostic pitfalls. Radiographics. 2006; 26: 19–43.
12. *Lee S.K., Brugge K.G.* Cerebral venous thrombosis in adults: the role of imaging evaluation and management. Neuroimag. Clin. N. Am. 2003; 13: 139–152.
13. *McBane R.D., Tafur A., Wysokinski W.E.* Acquired and congenital risk factors associated with cerebral venous sinus thrombosis. Thromb Res. 2010; 126: 81–87.
14. *Palena L.M., Toni F., Piscitelli V. et al.* CT Diagnosis of cerebral venous thrombosis: importance of the first examination for fast treatment. The Neuroradiology J. 2009; 22: 137–149.
15. *Sapoznik G., Barinagarrementeria F., Brown R.D. et al.* Diagnosis and management of cerebral venous thrombosis: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 2011; 42: 1158–9210.
16. *Von Kummer R., Allen K.L., Holle R. et al.* Acute stroke: usefulness of early CT findings before thrombolytic therapy. Radiology. 1997; 205: 327–333.

## A comparative clinical and neuroimaging study of venous and arterial strokes

V.V. Mashin, L.A. Belova, M.Yu. Moiseev, A.N. Proshin

*Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia*

**Keywords:** venous stroke, neurological deficit, functional status, magnetic resonance imaging.

Eighty four patients with clinical signs of acute cerebrovascular disease were examined. According to MRI, 20 patients were diagnosed with venous infarction, and 64 patients were diagnosed with arterial infarction. Venous strokes developed more frequently in patients at a relatively young age and in females. The clinical picture of venous stroke is characterized by subacute and slow development of clinical manifestations; prevalence of cerebral symptoms over focal symptoms; symptoms indicative of cerebral

venous discirculation; a tendency towards relatively rapid regression of cerebral symptoms. According to MRI, the localization of infarction in venous stroke does not coincide with territories of blood supply to the main intracranial arteries; the form of foci is irregular, and their contours are rough and indistinct; signs of cerebral venous discirculation, intracranial venous stasis, and vasogenic edema are visualized.

**Контактный адрес:** Машин Виктор Владимирович – докт. мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии, физиотерапии и лечебной физкультуры ФГБОУ ВПО УлГУ. 432017, Ульяновск, ул. Льва Толстого, д. 42. Тел.: +7 (8422) 45-45-52; e-mail: victor\_mashin@mail.ru;

Белова Л.А. – проф. каф. неврологии, нейрохирургии, физиотерапии и лечебной физкультуры ФГБОУ ВПО УлГУ;

Моисеев М.Ю. – мл. науч. сотрудник ФГБОУ ВПО УлГУ;

Прошин А.Н. – мл. науч. сотрудник ФГБОУ ВПО УлГУ.

# Навигационная ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в постинсультной реабилитации: рандомизированное слепое плацебо-контролируемое исследование

А.В. Червяков, А.Г. Пойдашева, М.А. Назарова, В.В. Гнездицкий, Н.А. Супонева, Л.А. Черникова, М.А. Пирадов

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

*Навигационная рТМС обладает значительно большей точностью в локализации зоны стимуляции, что открывает большие перспективы для модуляции нейропластичности. Проведено интервенционное рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование для оценки эффективности навигационной рТМС в постинсультной реабилитации. Установлено, что низкочастотная стимуляция достоверно снижает выраженность моторного дефицита и повышает индекс повседневной жизненной активности Бартел. Высокочастотная стимуляция достоверно уменьшает спастичность по шкале Ашворта и выраженность центрального постинсультного болевого синдрома. Полученные данные обосновывают использование рТМС в комплексе реабилитации пациентов после инсульта. Применение навигационной рТМС, по сравнению с рутинной ТМС (без навигации), позволяет более эффективно воздействовать на нейропластические процессы и открывает новые возможности в персонализированном подборе нейрореабилитационных программ.*

**Ключевые слова:** навигационная ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция, реабилитация после инсульта.

## Введение

Ненавигационная (рутинная) ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция (рТМС) в постинсультной реабилитации применяется с середины 1990-х гг. Этот метод неинвазивной стимуляции мозга способен изменять возбудимость отдельных участков коры, стимулируя или, напротив, ингибируя ее. Известно, что после инсульта значительно нарушаются как межполушарные, так и внутриполушарные взаимодействия между такими регионами, как первичная моторная кора (M1), премоторная кора (PMC), дополнительная моторная кора (SMA). Вследствие уменьшения транскаллозального ингибирования со стороны пораженного полушария происходит избыточная активация в гомологичных зонах здорового полушария, что оказывает отрицательное влияние на нейропластические процессы в пораженном полушарии и ухудшает восстановление. Поэтому предполагается, что активация пораженного полушария (с помощью высокочастотной стимуляции) и/или ингибирование непораженного полушария (с помощью низкочастотной стимуляции) считаются наиболее эффективными стратегиями в постинсультной нейрореабилитации [22].

В базе данных PubMed насчитывается порядка 174 публикаций об изучении влияния рТМС на моторные функции

после инсульта, в т.ч. 19 плацебо-контролируемых исследований и 3 метаанализа [11, 12, 17] с общим охватом более 500 пациентов. С 2005 г. появилось большое число исследований, доказывающих эффективность низкочастотной рТМС в восстановлении моторных функций [5, 9, 20, 23]. Некоторые работы продемонстрировали эффективность высокочастотной стимуляции пораженного полушария при восстановлении моторных функций в острой и подострой стадиях инсульта [14–16]. Дополнительные исследования показали, что рТМС имеет наилучший эффект при локализации очага ишемии в подкорковых образованиях по сравнению с корковой локализацией [2, 6]. В одном исследовании было показано, что двусторонняя стимуляция (1 Гц – на непораженное полушарие; 10 Гц – на пораженное полушарие) улучшает моторные функции и снижает спастичность у пациентов в хронической стадии инсульта [31].

К настоящему времени уже проведено несколько метаанализов. Результаты первого из них, опубликованного в журнале Stroke [12] и включающего 34 публикации (392 пациента), показали достоверное улучшение двигательных функций верхних конечностей у пациентов после инсульта под влиянием рТМС. При этом низкочастотная стимуляция здорового полушария оказалась более эффективной, чем высокочастотная непораженного полушария. Напротив, метаанализ 2013 г. [11], включивший в свой со-

став 19 клинических исследований с общим числом пациентов 588 чел. и опубликованный в Кокрановской базе данных, свидетельствует об отсутствии достоверного эффекта по показателям индекса Бартел и шкале ARAT (моторный дефицит) вне зависимости от режима стимуляции – низкочастотного или высокочастотного. В последнем по этой тематике метаанализе 2014 г., включившем 8 исследований с охватом 273 пациентов, снова было показано, что рТМС (как высокочастотная, так и низкочастотная) достоверно улучшает функции руки и движения в пальцах. Совокупность данных публикаций и обзоров позволили группе европейских экспертов присвоить класс доказательности «В» применению низкочастотной стимуляции первичной моторной коры (M1) непораженного полушария у пациентов в позднем восстановительном периоде инсульта (после 6 мес) и уровень «С» высокочастотной стимуляции зоны M1 пораженного полушария у пациентов в острой и подострой стадиях инсульта (от 8 дней до 6 мес) [18].

Столь противоречивые данные свидетельствуют о том, что рТМС в постинсультной реабилитации остается пока еще неясным. В первую очередь стоит вопрос о выборе наиболее эффективного протокола в зависимости от сроков, латерализации очага поражения и индивидуальных особенностей протекания нейропластических процессов. Новой технологией неинвазивной стимуляции мозга является использование системы навигационной ТМС (нТМС). Последняя обладает двумя основными преимуществами: она дает возможность точно локализовать место стимуляции, ориентируясь на МРТ конкретного пациента, и с точностью до 2 мм позволяет повторять место стимула каждый день в течение всего курса терапии. Ранее были показаны преимущества использования нейронавигации при выборе точки стимуляции при лечении депрессии [7, 27]. Исследований, в которых навигационная рТМС использовалась бы в постинсультной реабилитации, по данным базы PubMed, в мире пока еще не проводилось.

**Целью** данной работы является оценка эффективности навигационной ритмической транскраниальной магнитной стимуляции в реабилитации пациентов, перенесших нарушения мозгового кровообращения (НМК) с двигательными нарушениями.

## Материалы и методы

### Дизайн исследования

Интервенционное рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование.

**Сроки исследования:** декабрь 2011 г. – октябрь 2014 г.

таблица 1: Характеристика групп и пациентов, включенных в исследование.

ГРУППЫ ИССЛЕДОВАНИЯ			
Группа 1 (экспериментальная). Низкочастотная стимуляция, 100% Motor threshold (MT), 20 мин, непораженное полушарие (M1, APB)	Группа 2 (экспериментальная). Высокочастотная стимуляция: 10 Hz, 80% MT, 2 сек – стимуляция, 58 сек – отдых; пораженное полушарие (M1, APB)	Группа 3 (экспериментальная). Стимуляция последовательно двух полушарий: высокочастотная – пораженное, низкочастотная – непораженное (M1, APB)	Группа 4 (контроль). Имитация стимуляции
n=61; средний возраст – 50,85±15,42 лет, 12,81 мес. после инсульта (1–84 мес)			
Средний возраст –52,16±10,04 лет, месяцев после НМК – 8,44±13,62	Средний возраст – 58,95±9,16 лет, месяцев после НМК – 18,47±28,30	Средний возраст – 60,40±9,03 лет, месяцев после НМК – 8,50±11,95	Средний возраст – 60,27±11,51 лет, месяцев после НМК – 10,00±14,67
N=19	N=20	N=11	N=11

## Пациенты

В исследование был включен 61 пациент с нарушениями мозгового кровообращения сроком от 8 сут до 3-х лет (средний возраст 57,03±10,68; 63% мужчин и 37% женщин; 100% правшей), отобранные из лиц, проходивших стационарное лечение в Научном центре неврологии. **Критерии включения:** возраст от 18 до 70 лет, подтвержденное с помощью нейровизуализационных методик (МРТ, КТ) нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу сроком от 8 сут до 3-х лет, с локализацией очага в бассейне каротидных артерий; тяжесть неврологического дефицита в остром периоде инсульта по шкале NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale) – от 5 до 20 баллов и оценка по модифицированной шкале Рэнкина не выше 4. Все пациенты подписывали информированное согласие. В исследование **не включались** пациенты с тяжелой соматической патологией (острый инфаркт миокарда, тромбоз вен нижних конечностей, эпизоды ТЭЛА), в т.ч. находящиеся на ИВЛ; с имплантированными электрокардиостимуляторами, внутрисердечными катетерами, электронными помпами; металлическими скобками, металлическими пластинами, закрывающими дефекты черепа, инородными металлическими телами в полости черепа. Кроме того, не были включены пациенты, у которых при проведении скрининговой электроэнцефалографии была выявлена эпилептиформная активность. Пациент **прекращал участие** в исследовании при возникновении у него ОНМК, развитии эпилептического приступа или при его отказе от дальнейшего участия.

**Первичной конечной точкой явилось:** наступление нежелательных реакций (развитие нового НМК, подтвержденное данными КТ или МРТ; эпилептического приступа в течение всего периода исследования). **Вторичная конечная точка:** проведение 10 сеансов ритмической нТМС.

Пациенты с помощью метода конвертов были рандомизированы на 4 группы: 3 экспериментальных и группа имитации стимуляции (плацебо). В табл. 1 представлено распределение пациентов по группам. Достоверных отличий по возрасту, срокам давности НМК, результатам оценки по используемым клиническим шкалам экспериментальных групп от группы имитации стимуляции до начала терапии не найдено (p>0,05) (табл. 2).

Таким образом, в исследование включались пациенты на разных сроках от начала НМК (острые, подострые, хронические). При включении пациентов в исследование и распределении их по группам локализация ишемического очага (корковый или подкорковый) во внимание не принималась.

таблица 2: Динамика основных клинических показателей на фоне проводимой терапии (Медиана [25; 75 квартили]); \* –  $p < 0,05$ .

Шкалы оценки	1 Гц, группа 1		10 Гц, группа 2		Оба полушария, группа 3		Имитация, группа 4	
	до	после	до	после	до	после	до	после
Фугл-Майера	22,67* [6; 41]	38* [22; 50]	47,0* [18,5; 57,5]	56* [44; 62]	25,0 * [19; 39]	46,5* [24,5; 52,5]	29,00 [16; 40]	28,00 [16; 57]
Ашворта	1,0 [1; 2,5]	1,0 [0; 3]	2,0 [1; 2]*	1,0 [1; 1]*	1,5 [1; 2]	1,0 [1; 2]	1,0 [1; 3]	1,0 [1; 2]
Бартел	80* [52,5; 95]	95* [80; 100]	90 [65; 105]	100 [70; 105]	92,5 [60; 105]	100 [70; 105]	92,5 [85; 100]	90 [75; 100]
Рэнкина	3,0 [3; 4]	3,0 [2,5; 3]	2,0 [1; 3]	2,0 [1; 2]	2,5 [2; 3]	2,5 [1,5; 3]	3,0 [2; 3]	3,0 [2; 4]

### Навигационная ТМС

С помощью системы навигационной ТМС NBS eXimia Nexstim (Финляндия) до начала терапевтической стимуляции и после 10 сеансов рТМС всем пациентам проводилось картирование моторного представительства *m. abductor pollicis brevis* (APB) в здоровом и пораженном полушариях.

### Ритмическая навигационная ТМС

Пациенты экспериментальных групп помимо стандартного комплекса реабилитации получили 10 сеансов рТМС зоны M1, калиброванной под навигационную систему Nexstim на аппарате Magstim Rapid<sup>2</sup>. Точка для стимуляции выбиралась на основании результатов картирования с помощью нТМС по максимальной амплитуде моторного ответа в контралатеральной руке (*hotspot* APB).

Первой группе проводилась низкочастотная (1 Гц) стимуляция неповрежденного полушария с интенсивностью 100% МТ, 1200 стимулов/сессия. Пациенты второй группы получали высокочастотную (10 Гц) стимуляцию пораженного полушария с интенсивностью 80% МТ, 200 стимулов/сессия. Третья группа получала последовательную комбинацию двух вышеуказанных протоколов (низкочастотная, затем высокочастотная). Как и пациенты экспериментальных (1, 2, 3) групп, пациенты плацебо-группы (4) получали стандартное физиотерапевтическое лечение, кинезиотерапию (ЛФК, массаж, механотерапия), а также имитацию процедуры рТМС без реального воздействия электромагнитного поля. Протокол стимуляции был известен лицам, непосредственно выполняющим манипуляции, и был скрыт от пациента и врача, проводившего клиническую оценку до и после лечения.

Для оценки моторного дефицита мы использовали шкалу Фугл-Майера для руки (максимальное количество баллов – 66), модифицированную шкалу Ашворта для оценки спастичности, индекс Бартел для оценки повседневной жизненной активности, для оценки ходьбы – шкалу Пэрри, визуальную аналоговую шкалу для оценки болевого синдрома (ВАШ) и шкалу Рэнкина как показатель инвалидизации и функциональной независимости.

Статистический анализ проводился с помощью ПО Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., USA). Данные представлены в виде медианы и квартилей 25% и 75%. Сравнение проводилось с помощью непараметрических методов: Sign тест, межгрупповые различия анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с *post-hoc* анализом (Newman-Keuls test). Различия считались достоверными при значении  $p < 0,05$ .

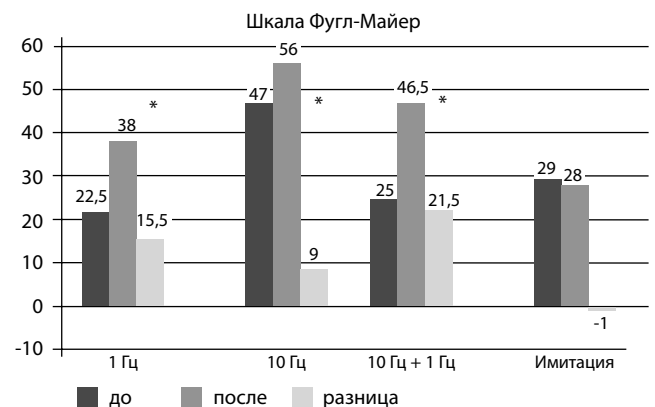
Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН и зарегистрировано в базе данных ClinicalTrials.gov – NCT01652677.

### Результаты

#### Клиническая эффективность

В группе имитации стимуляции (плацебо) достоверных изменений ни по одному из клинических показателей получено не было ( $p > 0,05$ ). Также не было найдено достоверных отличий ни в одной группе исследования по шкале Пэрри, оценивающей ходьбу.

Изменение результатов оценки состояния больных по клиническим шкалам в динамике на фоне проводимой терапии в группах исследования представлены в табл. 2. По шкале моторного дефицита в руке (шкала Фугл-Майера) выявлено достоверное повышение показателей во всех экспериментальных группах при проведении Sign теста (низкочастотная ( $p=0,0002$ ), высокочастотная ( $p=0,001$ ) стимуляции, группа стимуляции обоих полушарий ( $p=0,01$ )) (рис. 1). При проведении однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (Repeated measures ANOVA) с *post-hoc* анализом (Newman-Keuls test) также выявлено достоверное отличие экспериментальных групп от группы имитации. Достоверно улучшились моторные функции в руке как в группах высокочастотной стимуляции ( $p=0,01$ ), низкочастотной стимуляции ( $p=0,0015$ ), так и после стимуляции обоих полушарий ( $p=0,0003$ ). Достоверное уменьшение спастичности по модифицированной шкале Ашворта в паретичной руке было выявлено только в группе 2, т.е. после проведения высокочастотной стимуляции пораженного полушария (Sign test,  $p=0,01$ ; Repeated measures ANOVA, Newman-Keuls test,  $p=0,003$ ) (рис. 2).



Примечание: \* – различие достоверно.

рис. 1. Динамика клинических показателей по шкале Фугл-Майер.



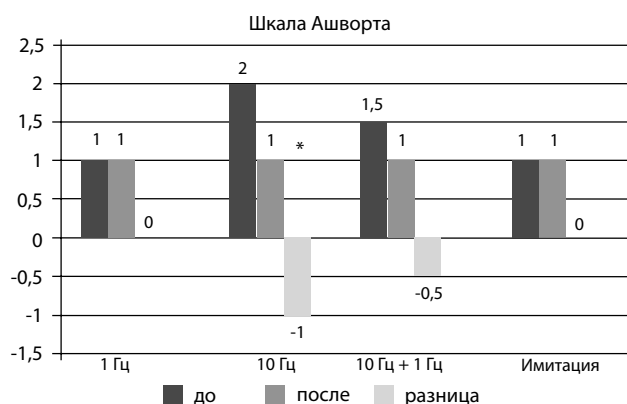


рис. 2. Динамика клинических показателей по шкале Ашворта.

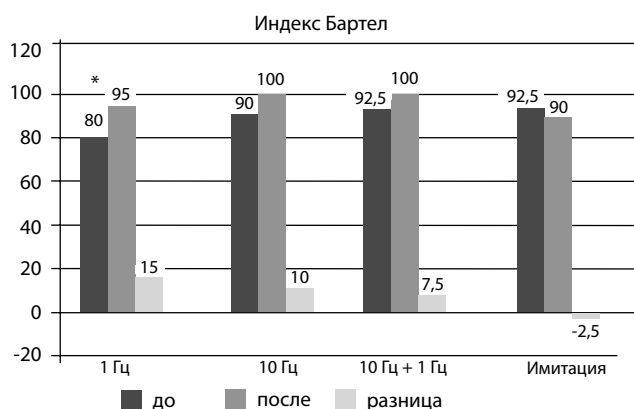


рис. 3. Динамика клинических показателей по индексу Бартел.

Улучшение повседневной жизненной активности по индексу Бартел достоверно показано в группе низкочастотной стимуляции (Sign test,  $p=0,001$ ) (рис. 3). При проведении однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений, помимо достоверного повышения в группе низкочастотной стимуляции ( $p=0,00059$ ), также было выявлено достоверное снижение показателей в группе имитации стимуляции ( $p=0,01$ ).

При сравнении динамики клинических показателей (diff=After–Before) между группами с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) выявлено, что выраженность пареза в руке по шкале Фугл-Майера в динамике достоверно отличалась между группами имитации стимуляции и группами низкочастотной стимуляции ( $p=0,02$ ) и стимуляции двух полушарий ( $p=0,02$ ). Выраженность спастичности по шкале Ашворта до и после курса лечения достоверно отличались только в группе высокочастотной стимуляции ( $p=0,04$ ). Инвалидизация и индекс повседневной активности, оцениваемые по индексам Бартел и Рэнкина, исходно сопоставимые во всех четырех группах, достоверно отличались во всех экспериментальных группах (группы 1, 2 и 3) после применения рТМС по сравнению с группой имитации стимуляции (группа 4) ( $p<0,05$ ). При этом индекс Бартел максимально повысился в группе низкочастотной стимуляции, а индекс Рэнкина снизился в наибольшей степени в группе высокочастотной стимуляции. При проведении однофакторного дисперсионного анализа также выявлено достоверное снижение индекса Рэнкина в группе высокочастотной стимуляции ( $p=0,0096$ ), низкочастотной стимуляции

( $p=0,016$ ), стимуляции обоих полушарий ( $p=0,022$ ). Хотя, как видно из табл. 2, при наличии достоверных отличий данные изменения, вероятнее всего, были клинически не столь значимы.

Отдельно стоит отметить, что высокочастотная стимуляция достоверно снижала выраженность центрального постинсультного болевого синдрома (ЦПБС) по сравнению с имитацией стимуляции (Sign test,  $p=0,001$ ). При этом обезболивающий эффект рТМС оказался ограниченным во времени и выраженность болевого синдрома возвращалась к исходным значениям в среднем через 2–3 мес.

Таким образом, полученные данные позволяют констатировать, что максимальное воздействие на моторные функции в руке оказывает низкочастотная стимуляция и стимуляция обоих полушарий, снижая выраженность моторного дефекта на 86% и 68% соответственно. При этом низкочастотная стимуляция достоверно повышает индекс повседневной жизненной активности Бартел на 19%. Достоверно эффективными в отношении таких проявлений НМК, как спастичность и ЦПБС, оказалась высокочастотная стимуляция. При этом использование любого протокола стимуляции оказывает достоверное влияние на степень инвалидизации и повседневную жизненную активность по сравнению с группой имитации стимуляции.

### Осложнения рТМС

За время проведения исследования у двоих пациентов (3%) развились вторично генерализованные эпилептические припадки. У одной пациентки (3 мес после НМК в бассейне левой СМА) – во время проведения диагностического картирования; впоследствии у нее развилась симптоматическая постинсультная эпилепсия. У второго пациента (4 мес после НМК в бассейне правой СМА) – во время первого сеанса высокочастотной рТМС. Оба приступа были связаны с недооценкой данных ЭЭГ, на которых выявлялись эпилептиформные знаки, на этапе скрининга. У 25 пациентов (38%) после рТМС отмечалась кратковременная головная боль средней интенсивности, не требовавшая назначения дополнительной терапии. У 29 пациентов (45%) (из них 73% пациента были из группы высокочастотной стимуляции) после 10 сеансов рТМС отмечалось усиление пароксизмальной или появление эпилептиформной активности на ЭЭГ. Пять пациентов (8%) исключены из исследования: двое – в связи с развитием эпилептиформных приступов, двое – по собственному желанию, один – из-за ухудшения соматического статуса (тромбоз вен нижних конечностей, флотация тромба).

### Ограничения

Первым ограничением работы является полученная в ходе рандомизации разнородность групп пациентов до начала исследования, в частности группы 2 (высокочастотная стимуляция). Пациенты этой группы имели больший срок от развития НМК, более выраженную спастичность (высокие показатели по шкале Ашворта) и меньшую степень пареза (высокий балл по шкале Фугл-Майера). При этом следует подчеркнуть, что данное отличие не было статистически достоверным (ANOVA,  $p>0,05$ ). Тем не менее полученные результаты в данной группе следует воспроизвести в последующих клинических исследованиях для уточнения их истинности.

Вторым ограничением был большой разброс показателей клинических шкал (широкий диапазон квартилей и дове-

рительных интервалов) внутри групп. Данная разнородность была допущена умышленно, чтобы максимально приблизиться к реальной генеральной совокупности пациентов с НМК, а не выбирать отдельные когорты пациентов с определенным сроком или локализацией инсульта. Стоит подчеркнуть, что даже в столь разнородных по тяжести и локализации инсульта группах удалось выявить достоверные отличия, подтвержденные несколькими методами непараметрической статистики.

## Обсуждение

В результате исследования показано, что применение навигационной системы ТМС позволяет увеличить эффективность реабилитации. На моторные функции оказывает наилучшее воздействие низкочастотная стимуляция, а также стимуляция обоих полушарий. При этом низкочастотная стимуляция достоверно повышает индекс повседневной жизненной активности. Высокочастотная стимуляция снижает спастичность и выраженность ЦПБС. Максимальное число серьезных неблагоприятных осложнений зафиксировано в группе высокочастотной стимуляции (эпилептиформные, появление эпилепсии на ЭЭГ). Устранение данных осложнений возможно при проведении скрининг-ЭЭГ всем пациентам до начала рТМС.

Теоретическое обоснование использования неинвазивной стимуляции мозга в постинсультной реабилитации кроется в возможности этой методики изменять возбудимость отдельных регионов коры и функциональное взаимоотношение этих регионов. Известно, что после нарушений мозгового кровообращения в значительной мере меняется взаимоотношение зон М1, РМС, SMA обоих полушарий. Изменяя возбудимость этих регионов коры, можно модулировать нейропластические процессы, происходящие после НМК. Основной концепцией процессов нейропластичности после перенесенного инсульта является теория «междуполушарного соревнования».

В нейровизуализационных и нейрофизиологических исследованиях доказано, что после инсульта происходит гиперактивация в противоположном очагу поражения «здоровом» полушарии, что приводит к ингибированию ипсилатерального полушария через транскаллозальные соединения, что, в свою очередь, неблагоприятно влияет на процессы восстановления [10]. Поэтому наиболее эффективным протоколом стимуляции для улучшения моторных функций, по данным большинства публикаций, метаанализов и наших данных, является низкочастотная (ингибирующая) стимуляция здорового полушария (как одна, так и последовательно с высокочастотной стимуляцией пораженного полушария). Недостаточная эффективность отдельно высокочастотной стимуляции пораженного полушария, вероятно, связана с отсутствием субстрата для стимуляции у ряда пациентов (зона некроза в моторной зоне или проводящих путях).

До сих пор остается не до конца ясным механизм воздействия рТМС при ЦПБС. Существует несколько гипотез. Согласно одной из них, эффекты стимуляции моторной коры опосредованы воздействием на проекции М1 на структуры, участвующие в формировании болевого восприятия, среди которых медиальные отделы таламуса, передняя цингулярная борозда, орбитофронтальная кора, околосредоводное серое вещество [30]. Согласно другой, обезболивающее действие рТМС является следствием

стимуляции ГАМК-эргических тормозных нейронов моторной коры, которые напрямую ингибируют активность ядер таламуса, блокируя всю соматосенсорную систему, включая и ноцицепцию [26]. Эту гипотезу подтверждает тот факт, что эффективность рТМС коррелирует с сохранностью таламокортикального тракта у пациентов с постинсультным болевым синдромом [8, 24].

Интересным является влияние рТМС на постинсультную спастичность. В ранее проведенных исследованиях было выявлено положительное влияние низкочастотной стимуляции непораженного полушария на данный синдром [3, 13, 19]. В нашем исследовании протокол низкочастотной стимуляции не повлиял на спастичность, оцениваемую по модифицированной шкале Ашворта, что, возможно, связано с незначительной степенью спастичности в этой группе, зато высокочастотная стимуляция пораженного полушария оказала позитивный эффект. Объяснением этому может быть то, что активация моторной коры, возникающая вследствие высокочастотной стимуляции, усиливает нисходящее влияние на спинальную рефлекторную активность, увеличивает тормозное влияние на чрезмерно возбужденные альфа-мотонейроны и в конечном итоге приводит к снижению рефлекса растяжения и спастичности.

При повреждении коры головного мозга происходит снижение кортикального влияния на кортикоспинальный и ретикулоспинальный тракты. Коллатерали кортикоспинальных нейронов имеют моносинаптические контакты с нейронами ретикулоспинальной системы, которые, в свою очередь, контактируют с клетками Реншоу. Повреждение кортикоспинальных проекций приводит к изменению супраспинального модулирующего влияния на клетки Реншоу, при этом отмечается невозможность адекватного регулирования уровня активности тормозных интернейронов как до начала движения, так и при его выполнении [21]. Вероятно, высокочастотная стимуляция пораженного полушария и повышение активности сохранившихся нейронов приводит к увеличению ингибирующего их влияния на спинальные центры и, соответственно, к снижению мышечного тонуса. Выяснению механизмов влияния ТМС на спинальную и церебральную спастичность должны быть посвящены дальнейшие исследования.

Центральным вопросом данной работы является определение преимуществ навигационной ТМС перед «классической», т.е. ответ на вопрос: насколько необходимо применение дорогостоящей навигационной системы или достаточно довольствоваться «классической» ТМС? В нашем исследовании не было группы ТМС без навигации, но мы сопоставили наши результаты с ранее опубликованными данными [28]. Исследование W.H. Sung и соавт. (2013) было выбрано как отражающее средние показатели эффективности рутинной рТМС по шкале Фугл-Майера до и после низкочастотной стимуляции. Применение навигационной системы ТМС по сравнению с использованием системы без навигации позволяет повысить эффективность моторного восстановления на 73%. Предпосылками для столь значимого увеличения эффективности может являться, во-первых, точная локализация по МРТ, соответствующая первичной моторной коре (М1) [1], а не премоторной или сенсорной коре; во-вторых, точное ежедневное повторение стимуляции в одной и той же точке и, соответственно, одной популяции нейронов [29].

Как видно из описанных во введении данных, эффекты ритмической ТМС, хотя и доказаны, но являются чрезвычайно вариабельными. Как показывает практика, существует определенный процент пациентов, не чувствительных к терапии, кроме того, эффекты неинвазивной стимуляции ограничены по длительности. Несмотря на большое количество исследований и пациентов, в них включенных, нейропластические механизмы, лежащие в основе терапевтического воздействия ТМС, остаются неясными. Концепция межполушарной конкуренции является, по факту, весьма сильным допущением и на настоящий момент используется только из-за отсутствия других альтернативных гипотез [22]. Согласно одной из новых теорий, сохраненные после инсульта нейронные сети, в частности здорового полушария, могут брать на себя функции поврежденных отделов, компенсируя имеющиеся нарушения. G.D. Pino и соавт. (2014) предлагают новую концепцию бимодальной сбалансированной модели восстановления (объединяющую теорию межполушарного конкурирования и возможности здоровых частей мозга к восстановлению утраченных функций).

В рамках данной концепции навигационные системы для стимуляции мозга могут повысить эффективность существующих реабилитационных программ. Нам представляется, что перспективным развитием навигационной неинвазивной стимуляции на первом этапе будет долечебная комплексная оценка индивидуального нейрофизиологического и нейровизуализационного портрета пациента, выяв-

ление благоприятных и неблагоприятных для стимуляции зон головного мозга. На втором этапе будет производиться подбор терапевтических режимов ТМС с учетом этого портрета, а также индивидуальной анатомии, биохимии и коннектомики мозга. Подобный подход, но без навигационных систем, уже доказал свою эффективность в ряде работ с применением электрической стимуляции мозга. Например, было показано, что пациенты, у которых было зафиксировано более серьезное поражение кортикального тракта, по данным трактографии, плохо ответили на ингибирующий протокол ТЭС, в то время как пациенты с небольшим повреждением ответили лучше [4].

## Заключение

Навигационная транскраниальная магнитная стимуляция является эффективным дополнением к классической реабилитации пациентов, перенесших нарушения мозгового кровообращения, и положительно влияет на моторные функции, спастичность, функциональную активность, центральный постинсультный болевой синдром. Применение навигационной ТМС по сравнению с «классической» позволяет более эффективно воздействовать на нейропластические процессы и открывает новые возможности в персонализированном подборе нейрореабилитационных программ.

**Работа поддержана грантами РФФИ № 15-04-08686-а; № 13-04-12069-офи-м; 13-04-01139-а.**

## Список литературы

1. Ahdab R., Ayache S.S., Brugières P. et al. Comparison of "standard" and "navigated" procedures of TMS coil positioning over motor, pre-motor and prefrontal targets in patients with chronic pain and depression. *Neurophysiol Clin.* 2010 Mar; 40 (1): 27–36. doi: 10.1016/j.neucli.2010.01.001. Epub 2010 Jan 22.
2. Ameli M., Grefkes C., Kemper F. et al. Differential effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over ipsilesional primary motor cortex in cortical and subcortical middle cerebral artery stroke. *Ann Neurol* 2009; 66: 298–309.
3. Barros Galvão S.C., Borba Costa Dos Santos R., Borba Dos Santos P. et al. Efficacy of Coupling Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation and Physical Therapy to Reduce Upper-Limb Spasticity in Patients With Stroke: A Randomized Controlled Trial. *Archives of physical medicine and rehabilitation*; 2014 Feb. 95 (2): 222–229. Epub 2013, Nov 12.
4. Bradnam L.V., Stinear C.M., Barber P.A., Byblow W.D. Contralateral hemisphere control of the proximal paretic upper limb following stroke. *Cereb Cortex.* 2012 Nov; 22 (11): 2662–2667.
5. Dafotakis M., Grefkes C., Eickhoff S.B. et al. Effects of rTMS on grip force control following subcortical stroke. *Exp Neurol* 2008; 211: 407–412.
6. Emarat T.H., Moustafa R.R., Elnahas N.M. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation at 1 Hz and 5 Hz produces sustained improvement in motor function and disability after ischaemic stroke. *Eur J Neurol* 2010; 17: 1203–1209.
7. Fitzgerald P.B., Hoy K., McQueen S. et al. A randomized trial of rTMS targeted with MRI based neuro-navigation in treatment-resistant depression. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34: 1255–1262.
8. Goto T., Saitoh Y., Hashimoto N. et al. Diffusion tensor fiber tracking in patients with central post-stroke pain: correlation with efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation. *Pain* 2008; 140: 509–518.
9. Grefkes C., Nowak D.A., Wang L.E. et al. Modulating cortical connectivity in stroke patients by rTMS assessed with fMRI and dynamic causal modeling. *Neuroimage* 2010; 50: 233–242.
10. Grefkes C., Ward N.S. Cortical reorganization after stroke: how much and how functional? *Neuroscientist.* 2014 Feb; 20 (1): 56–70. doi: 10.1177/1073858413491147. Epub 2013 Jun 17.
11. Hao Z., Wang D., Zeng Y., Liu M. Repetitive transcranial magnetic stimulation for improving function after stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 5: CD008862.
12. Hsu W.Y., Cheng C.H., Liao K.K. et al. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on motor functions in patients with stroke: a meta-analysis. *Stroke* 2012; 43: 1849–1857.
13. Kakuda W., Abo M., Kobayashi K. et al. Anti-spastic effect of low-frequency rTMS applied with occupational therapy in post-stroke patients with upper limb hemiparesis. *Brain injury*; 2011, 25: 496–502.
14. Khedr E.M., Abdel-Fadeil M.R., Farghali A., Qaid M. Role of 1 and 3 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation on motor function recovery after acute ischaemic stroke. *Eur J Neurol* 2009; 16: 1323–1330.
15. Khedr E.M., Ahmed M.A., Fathy N., Rothwell J.C. Therapeutic trial of repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke. *Neurology* 2005; 65: 466–468.
16. Khedr E.M., Etraby A.E., Hemeda M. et al. Long-term effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on motor function recovery after acute ischemic stroke. *Acta Neurol Scand* 2010; 121: 30–37.
17. Le Q., Qu Y., Tao Y., Zhu S. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on hand function recovery and excitability of the motor cortex after stroke: a meta-analysis. *Am J Phys Med Rehabil* 2014; 93: 422–430.
18. Lefaucheur J.-P. et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clin Neurophysiol* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2014.05.021>.
19. Mally J., Dinya E. Recovery of motor disability and spasticity in

post-stroke after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Brain Research Bulletin*; 2008, 76: 388–395.

20. *Mansur C.G., Fregni F., Boggio P.S. et al.* A sham stimulation-controlled trial of rTMS of the unaffected hemisphere in stroke patients. *Neurology* 2005; 64: 1802–1804.

21. *Mazzochio R., Rossi A.* Involvement of spinal recurrent inhibition in spasticity. Further insights into the regulation of Renshaw cell activity. *Brain*; 1997; 120: 991–1003.

22. *Nowak D.A., Grefkes C., Ameli M., Fink G.R.* Interhemispheric competition after stroke: brain stimulation to enhance recovery of function of the affected hand. *Neurorehabil Neural Repair*. 2009; 23 (7): 641e65.

23. *Nowak D.A., Grefkes C., Dafotakis M. et al.* Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the contralesional primary motor cortex on movement kinematics and neural activity in subcortical stroke. *Arch Neurol* 2008; 65: 741–747.

24. *Ohn S.H., Chang W.H., Park C.H. et al.* Neural correlates of the antinociceptive effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on central pain after stroke. *Neurorehabil Neural Repair* 2012; 26: 344–352.

25. *Pino G.D., Pellegrino G., Assenza G. et al.* Modulation of brain plasticity in stroke: a novel model for neurorehabilitation. *Nat. Rev. Neurol.* advance online publication 9 September 2014; doi:10.1038/nrneurol.2014.162.

26. *Plow E.B., Pascual-Leone A., Machado A.* Brain stimulation in the treatment of chronic neuropathic and non-cancerous pain. *J.* 2012. *Pain* 13, 411–424.

27. *Schönfeldt-Lecuona C., Lefaucheur J.P., Cardenas-Morales L. et al.* The value of neuronavigated rTMS for the treatment of depression. *Neurophysiol Clin.* 2010 Mar; 40 (1): 37–43. doi: 10.1016/j.neucli.2009.06.004. Epub 2009 Jul 16.

28. *Sung W.H., Wang C.P., Chou C.L. et al.* Efficacy of coupling inhibitory and facilitatory repetitive transcranial magnetic stimulation to enhance motor recovery in hemiplegic stroke patients. *Stroke*. 2013 May; 44 (5): 1375–1382.

29. *Treister R., Lang M., Klein M.M., Oaklander A.L.* Non-invasive Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) of the Motor Cortex for Neuropathic Pain-At the Tipping Point? *Rambam Maimonides Med J.* 2013 Oct 29; 4 (4): e0023. doi: 10.5041/RMMJ.10130. eCollection 2013.

30. *Wasserman E.M., Epstein C.M., Ziemann U. et al.* The Oxford Handbook of Transcranial Stimulation. Oxford: Oxford University Press; 2008.

31. *Yamada N., Kakuda W., Kondo T. et al.* Bihemispheric repetitive transcranial magnetic stimulation combined with intensive occupational therapy for upper limb hemiparesis after stroke: a preliminary study. *Int J Rehabil Res* 2013; 36: 323–329.

## Navigated repetitive transcranial magnetic stimulation in post-stroke rehabilitation: a randomized, double-blind, sham-controlled study

A.V. Chervyakov, A.G. Poydasheva, M.A. Nazarova, V.V. Gnezditsky, N.A. Suponeva,  
L.A. Chernikova, M.A. Piradov

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia*

**Keywords:** navigated repetitive transcranial magnetic stimulation, post-stroke rehabilitation.

Navigated rTMS is characterized by a great accuracy of localizing the stimulated area, which opens up new prospects for neuroplasticity modulation. We conducted an interventional randomized double-blind sham-controlled study to evaluate the effectiveness of navigated rTMS in post-stroke rehabilitation. We found that low-frequency stimulation reliably reduces severity of motor deficit and increases the Barthel Index of Activities of Daily Living. High-frequency stimulation reduces spasticity

(Ashworth Scale) and severity of central post-stroke pain syndrome. Navigated repetitive transcranial magnetic stimulation effectively supplements the conventional rehabilitation of post-stroke patients. Compared to routine TMS, the use of navigated rTMS enables effective control of the neuroplastic processes and provides new opportunities in development of personalized neurorehabilitation programs.

**Контактный адрес:** Червяков Александр Владимирович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд. нейрореабилитации и физиотерапии ФГБНУ НЦН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-20-10, e-mail: tchervyakovav@gmail.com;

Пойдашева А.Г. – мл. науч. сотр. отд. нейрореабилитации и физиотерапии ФГБНУ НЦН;

Назарова М.А. – асп. ФГБНУ НЦН;

Гнездицкий В.В. – рук. лаб. клинич. физиологии ФГБНУ НЦН;

Супонева Н.А. – зав. отд. нейрореабилитации и физиотерапии ФГБНУ НЦН;

Черникова Л.А. – главн. науч. сотр. отд. нейрореабилитации и физиотерапии ФГБНУ НЦН;

Пирадов М.А. – член-корр. РАН, директор ФГБНУ НЦН.

# Спектр неврологических синдромов, ассоциированных с антителами к глутамат-декарбоксилазе

М.Ю. Краснов, Э.В. Павлов, М.В. Ершова, С.Л. Тимербаева, С.Н. Иллариошкин

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва)

*Неврологические синдромы, обусловленные продукцией антител к глутамат-декарбоксилазе (GAD65) – сравнительно новая область современной клинической неврологии, вызывающая большой интерес с теоретических и практических позиций. Высокий титр выявляемых антител является не всегда специфичным, но при этом высокочувствительным маркером аутоиммунного поражения ЦНС. Представлены собственные клинические наблюдения и анализ литературы, посвященной широкому фенотипическому спектру GAD65-ассоциированных форм патологии.*

**Ключевые слова:** синдром ригидного человека, спорадическая атаксия, лимбический энцефалит, анти-GAD65 антитела.

**Д**екарбоксилаза глутаминовой кислоты, или глутамат-декарбоксилаза, является ключевым участником синтеза гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – основного тормозного нейромедиатора в ЦНС. Глутамат-декарбоксилаза синтезируется главным образом в ГАМК-ергических нейронах ЦНС и β-клетках поджелудочной железы и существует в двух изоформах – мембраноассоциированной (GAD65) и растворенной (GAD67) [4].

Продукция анти-GAD65 антител (в норме они обнаруживаются лишь у 1% здоровых людей) ведет к дефициту ГАМК и, как следствие, – к гиперактивности двигательных единиц; это лежит в основе патогенеза синдрома ригидного человека (СРЧ) – одного из наиболее частых анти-GAD-ассоциированных неврологических синдромов. Спектр заболеваний, связанных с экспрессией анти-GAD65 антител, весьма широк. В неврологии, помимо СРЧ и его вариантов – синдрома ригидной конечности и прогрессирующего энцефаломиелимита с ригидностью и миоклониями, – это спорадическая атаксия, лимбический энцефалит, фокальная эпилепсия, опсоклонус-миоклонус, небный миоклонус, миастения (характер вышеуказанных нозологий может быть как идиопатическим, так и паранеопластическим) [20]. Другие аутоиммунные состояния, при которых выявляется высокий положительный титр анти-GAD65 антител – сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунная полиэндокринопатия, атрофический гастрит, В12-гипоавитаминоз, витилиго.

## Спорадическая атаксия

Анти-GAD65 антитела выявляются, по некоторым данным, в 11% случаев спорадических мозжечковых атаксий и у 40% пациентов с глютеновой атаксией [5]. Спорадической атаксии с анти-GAD антителами чаще подвержены женщины, возраст дебюта может варьировать от 39 до 77 лет и составляет в среднем 59 лет [15]. Нарастание неврологической симптоматики часто носит подострый характер, атаксия сопровождается и другими мозжечковыми

знаками – дизартрией, нистагмом, реже – мышечной ригидностью [16, 17, 23]. МРТ головного мозга на ранних стадиях не выявляет изменений, но в более поздние сроки может обнаруживаться умеренная мозжечковая атрофия [12]. Диагностический алгоритм в случае спорадических мозжечковых атаксий должен включать не только скрининг анти-GAD65, но и поиск антител к глиадину и онкопоиск с целью исключения рака молочной железы (у женщин) и мелкоклеточного рака легкого (у женщин и мужчин) как злокачественных новообразований, чаще всего обуславливающих паранеопластическую мозжечковую дегенерацию [12, 13].

Симптоматика глютеновой атаксии включает развитие сравнительно негрубой стато-локомоторной атаксии, реже – дисфагии, расстройств тазовых функций, нарушений глубокой чувствительности, угнетения ахилловых рефлексов, фасцикуляций и амиотрофий [11]. Примерно у четверти пациентов отмечается скрытая или симптоматическая глютеновая энтеропатия (диарея, синдром мальабсорбции, потеря веса и т.п.) [11]. Описано снижение титра антител к глутамат-декарбоксилазе у пациентов, придерживающихся диеты с низким содержанием глютена [14].

## Лимбический энцефалит

Лимбический энцефалит характеризуется подостро развивающимися изменениями личности, снижением памяти, эмоциональными и поведенческими нарушениями, он часто сопровождается психопродуктивной симптоматикой, психомоторным возбуждением и дезориентацией, генерализованными или сложными парциальными припадками [6, 20]. Важно помнить в первую очередь о возможном паранеопластическом генезе энцефалита и о том, что он может развиваться не только в качестве первого проявления опухоли, но и на фоне лечения ранее диагностированного новообразования [12]. Важным диагностическим методом, помимо иммунологического анализа, является МРТ, которая в ряде случаев обнаруживает увеличение интенсивности сигнала в режимах T2 и FLAIR от медиальных отделов



височных долей, реже — гипоталамуса и базальных отделов лобных долей [6, 20]. ЭЭГ часто выявляет замедление биоэлектрической активности, диффузное или фокальное (ограниченное лобными или височными долями), на фоне которого регистрируются вспышки пик-волна.

### Синдром ригидного человека

СРЧ (англ.: *Stiff-person syndrome*) проявляется прогрессирующей мышечной ригидностью и болезненными спазмами, преимущественно вовлекающими аксиальную мускулатуру. Спазмы могут провоцироваться разнообразными сенсорными стимулами (усиленная стартл-реакция и гиперэксплексия). Возможны также застывания при ходьбе, постуральная неустойчивость, падения [16, 20]. Длительно сохраняющийся гипертонус мышц часто приводит к развитию скелетных деформаций (патологический поясничный гиперлордоз, анкилоз суставов). Присоединение стволовой (глазодвигательные нарушения, дисфагия, дизартрия), пирамидной, вегетативной (профузное потоотделение, тахикардия, мидриаз, артериальная гипертензия, нейрогенный мочевого пузыря) симптоматики свидетельствует о развитии прогрессирующего энцефаломиелита с ригидностью и миоклониями (англ.: *Progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus, PERM*), который может рассматриваться как нозологический вариант СРЧ, так и в качестве самостоятельного заболевания [18, 20].

Частота встречаемости СРЧ в настоящее время оценивается как один случай на миллион населения. Возраст манифестации варьирует в пределах 13–81 лет. (средний возраст 46 лет), однако описаны редкие случаи дебюта в детском и даже младенческом возрасте [3]. Среди пациентов преобладают женщины (2/3). Сопутствующая аутоиммунная эндокринная патология выявляется в 70% случаев. Течение истинного СРЧ, как правило, благоприятное, компенсация состояния на фоне подобранной терапии обеспечивает высокое качество жизни пациентов и позволяет им сохранять социально активный статус [9].

### Диагностика

В основе инструментальной диагностики СРЧ лежит электромиография, ее характерный паттерн обусловлен постоянной тонической активностью двигательных единиц в покое; при этом типичны нормальные скорости распространения возбуждения по периферическим нервам, отсутствие признаков денервации и нормальные характеристики потенциалов двигательных единиц. Антитела к глутамат-декарбоксилазе выявляются у 80–90% больных (в остальных случаях обнаруживаются антитела к амфифинину, глициновым рецепторам GlyR1, DPPX и др.) [20].

Подтверждение диагноза СРЧ является сложной диагностической задачей как ввиду полиморфизма клинических проявлений самого синдрома, так и с учетом многообразия неврологических состояний, сопровождающихся генерализованным дистоническим гиперкинезом. Спектр рассматриваемых нозологических форм при проведении дифференциальной диагностики СРЧ включает:

- торсионную дистонию;
- психогенные двигательные расстройства;
- атипичные миелопатии;
- интоксикацию тетраноспазмином, стрихнином;
- синдром Сатойоши;
- нейромиотонию;

- болезнь Мак-Ардля (дефицит мышечной фосфорилазы);
- фибромиозит;
- склеродермию Бушке;
- болезнь Бехтерева.

Вычурность гиперкинезов при СРЧ, их провоцируемость эмоциональными или сенсорными стимулами, часто развивающиеся у пациентов агорафобия и боязнь ходьбы, связанные с опасением внезапного развития болезненной дистонической атаки, могут привести к ошибочной диагностике психогенных двигательных расстройств. С целью уточнения диагноза важно не только прибегать к иммунологическим и нейрофизиологическим методам обследования, но и помнить о непостоянстве и вариабельности двигательных психогенных феноменов, отсутствии в их картине единой стереотипии гиперкинезов.

Генерализованные дистонии, особенно редкие формы пароксизмальных кинезиогенных и некинезиогенных дистоний, а также миоклонус-дистонии, могут быть ошибочно расценены как СРЧ [2]. Отсутствие дистонических гиперкинезов, дискинезий, корригирующих жестов должно обращать на себя внимание специалиста.

Такое орфанное заболевание, как синдром Сатойоши, включает в себя не только прогрессирующие болезненные приступы судорог мышц, но и диарею, мальабсорбцию, множественную эндокринную патологию, алопецию, дисменорею, признаки дизрафического статуса (низкий рост, аномалии эпифизов, кисты костей, акроостеолит, переломы, раннее развитие остеоартрозов) [10]. Заболевание расценивается как аутоиммунное и связано с продукцией антинуклеарных антител (ANA), однако есть сообщения о выявлении анти-GAD65 антител в случае синдрома Сатойоши [11].

Нейромиотония в целом характеризуется довольно яркой и специфической клиникой, обычно позволяющей дифференцировать ее с другими неврологическими синдромами. При миотонии в первую очередь обращает на себя внимание вовлечение в патологический процесс дистальной мускулатуры конечностей, наличие миокимий и фасцикуляций, миотонических феноменов при движениях и перкуссии мышц [24]. Наконец, выраженность мышечного гипертонуса даже при длительной протекающей миотонии никогда не достигает той степени, какая наблюдается уже спустя месяцы от манифестации СРЧ, и не приводит к формированию стойких скелетных деформаций [24].

Системный гликогеноз, известный в медицинской литературе как болезнь Мак-Ардля, представляет собой наследуемый аутосомно-рецессивно дефицит мышечной фосфорилазы, обусловленный точковыми мутациями в гене *PYGM* [8, 25]. Составляющие «ядро» клинической картины болезненные мышечные судороги всегда приводят к миоглобинурии как проявлению распространенного рабдомиолиза, причем степень выраженности миоглобинурии варьирует, в особо тяжелых случаях провоцируя развитие острой почечной недостаточности [8].

Для склеродермической группы системных соединительнотканых заболеваний, помимо болезни Бушке включающей также системную склеродермию, ограниченные формы склеродермии, эозинофильный фасцит, вторичную индуцированную (в т.ч. паранеопластическую) склеродермию и псевдосклеродермические синдромы, всегда

характерны поражения кожи в виде формирования диффузного или ограниченного уплотнения с последующим развитием фиброза и атрофией пораженных участков [1]. Больные жалуются на постоянную, без провоцирующих факторов (за исключением Рейно-подобных феноменов в некоторых случаях), скованность при движениях, чувство поверхностного стягивания кожи. Пораженная кожа натянута, бледная или слегка синюшна, с трудом собирается в складку.

Анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева) – системное хроническое воспалительное заболевание суставов и позвоночника, относящееся к группе серонегативных полиартритов. Отличительными его особенностями являются боли в области крестца и поясницы, скованность, которые возникают в покое, особенно во второй половине ночи и ближе к утру и уменьшаются при движениях и упражнениях [7]. Характерны также усиление боли в период покоя и во время сна, формирование необратимой тугоподвижности позвоночника, напряжение мышц с постепенной их атрофией. В диагностике значительную роль играют методы нейровизуализации, позволяющие достаточно рано выявить анкилозирование межпозвоночных суставов.

### Лечение

К основным препаратам симптоматической терапии СРЧ относятся ГАМК-ергические средства, прежде всего бензодиазепины (диазепам, клоназепам) и баклофен, блокирующие усиленную активность спинальных мотонейронов [20]. Препаратом выбора является диазепам, который может назначаться как в виде монотерапии, так и в комбинации с клоназепамом и баклофеном. Диапазон эффективных доз велик и отражает различную индивидуальную чувствительность больных. Применение леветирацетама, основанное на его способности облегчать ГАМК-ергическую передачу, продемонстрировало свою эффективность в лечении не только СРЧ, но и синдрома PERM [19]. Антиадренергические средства (тизанидин, клонидин), как правило, не дают ожидаемого клинического эффекта. В тяжелых случаях, резистентных к стандартному лечению, возможно повторное многократное введение в параспинальные мышцы ботулотоксина типа А. Коррекция сопутствующих эндокринных нарушений играет не менее важную роль и также может уменьшать выраженность ригидности и мышечных спазмов.

В лечении СРЧ нашли свое применение также кортикостероиды [21], плазмаферез и внутривенное введение иммуноглобулина IV-Ig [22]. При неэффективности указанных мер в тяжелых случаях возможно длительное применение цитостатиков (азатиоприн, циклофосфамид, микофенолат, ритуксимаб) [20].

### Клинические примеры

В течение последнего года в V неврологическом отделении Научного центра неврологии наблюдались три пациентки с идиопатическим СРЧ (табл. 1). Во всех случаях заболевание дебютировало подостро, на фоне относительного соматического здоровья и клинически характеризовалось прогрессирующей мышечной ригидностью и болезненными тоническими спазмами аксиальной мускулатуры, усиливающимися под воздействием резких световых, звуковых и других неожиданных стимулов.

таблица 1: Клиническая характеристика обследованных пациентов.

	К., 32 лет	М., 33 лет	С., 54 лет
Длительность заболевания	2 месяца	3 месяца	4 года
<b>КЛИНИКА</b>			
гипертонус паравертебральных мышц нижнегрудного и верхнепоясничного отделов позвоночника	+	+	+
гипертонус прямых мышц живота	+	+	+
гипертонус мышц рук	(проксимальная группа)	–	–
гипертонус мышц ног	–	(приводящие мышцы бедра)	–
поясничный гиперлордоз	+	+	+
ограничение объема движений в нижнегрудном и поясничном отделах позвоночника	+/-	+	++
нарушение ходьбы	–	–	++
Титр антиGAD65 (норма <5,0 Ед/мл)	>1000 Ед/мл	268,3 Ед/мл	787,4 Ед/мл
Сопутствующая патология	синдром тиреотоксикоза; диффузный токсический зоб I степени	аутоиммунный тиреозит; криптогенная эпилепсия со сложными парциальными припадками	аутоиммунный тиреозит
Симптомы «+»	–	–	междерная офтальмоплегия, правосторонний с-м Бабинского
Лечение	диазепам 30 мг/сут баклофен 50 мг/сут	диазепам 20 мг/сут, баклофен 30 мг/сут, клоназепам 1 мг/сут, леветирацетам 1750 мг/сут	клоназепам 7 мг/сут, леветирацетам 750 мг/сут, клозапин 6,25 мг/сут

Все больные прошли комплексное обследование, в рамках которого были выполнены нейровизуализация (МРТ головного мозга, шейного, грудного и пояснично-крестцового отделов позвоночника и спинного мозга), ультразвуковое исследование органов брюшной полости и малого таза, рентгенография органов грудной клетки, электроэнцефалография, электромиография. Лаборатор-



рис. 1: Электромиография: регистрируется постоянная, равномерная активность двигательных единиц без признаков «залповости», с потенциалами, параметры которых находятся в пределах возрастной нормы.

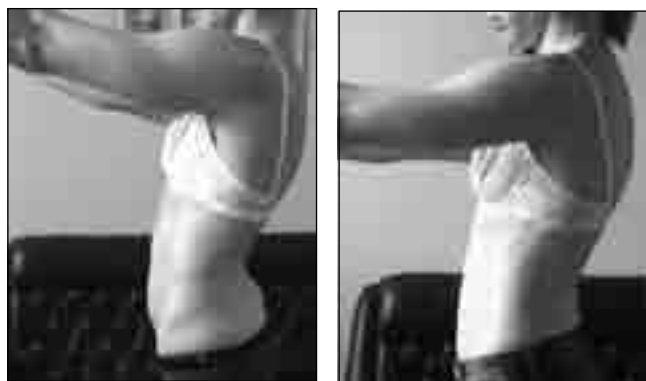


рис. 2. Поясничный гиперлордоз, гипертонус мышц живота до и на фоне лечения.

ные исследования включали: онкомаркеры (РЭА, АФП, ХГЧ, СА 125, СА 15-3), антинейрональные антитела (Hu, Yo-1, CV2, PNMa2, Ri, AMPH), мышечные маркеры (креатинфосфокиназа, миоглобин), ревматологические пробы (ревматологический фактор, С-реактивный белок, фибриноген, антистрептолизин – О), гормоны щитовидной и паращитовидной желез, рутинные лабораторные исследования крови и мочи. Во всех случаях значимые отклонения от нормы были выявлены только по данным электромиографии (рис. 1) и анализа на анти-GAD65 антитела, что в конечном итоге послужило критерием постановки диагноза. Титр антител не демонстрировал видимой корреляции с фенотипом и выраженностью клинических проявлений.

Подход к терапии соответствовал общепринятым в мировой медицинской практике стандартам лечения СРЧ: все больные получали бензодиазепины; в качестве дополнительной терапии применялись миорелаксант центрального действия баклофен и противоэпилептический препарат леветирацетам. У пациентки К., 32 лет, (рис. 2) и пациентки М., 33 лет, можно говорить о классическом,

наиболее характерном случае СРЧ – с хорошей реакцией на проводимую терапию и быстрой компенсацией состояния. Третий клинический пример (пациентка С., 54 лет) может быть расценен как «промежуточная» форма между СРЧ и синдромом PERM. До обращения в Научный центр неврологии пациентка С. получала сеансы плазмафереза, пульс-терапию преднизолоном, однако минимальный клинический эффект отмечался только на фоне приема клозапема. На момент обращения в наш центр она с трудом обслуживала себя, могла передвигаться только с посторонней поддержкой. Значительное улучшение состояния было достигнуто после назначения леветирацетама и малых доз атипичного нейролептика клозапина, обладающего также антидепрессивной активностью, в сочетании с выраженным снотворным, седативным, нормотимическим и анксиолитическим действием.

## Заключение

Существующее разнообразие антигенных мишеней, возможность продукции анти-GAD65 антител как при идиопатических, так и при паранеопластических вариантах обсуждаемых синдромов определяют клинический полиморфизм и возникающие диагностические трудности.

Выявление антител к GAD65 в сыворотке крови – доступный на сегодня диагностический тест, который выполняется с помощью радиоиммунного анализа или иммуносербентного энзимного метода (ELISA); следует помнить, однако, о существовании серонегативных форм. Применение иммунологических тестов, корректная интерпретация полученных результатов и сопоставление их с данными нейровизуализационных и электрофизиологических методов обследования помогают не только в решении диагностических задач, но способствуют обнаружению зависимости между уровнем экспрессии антител и разнообразием клинических проявлений.

## Список литературы

1. Каламкарян А.А., Мордовцев В.Н., Трофимова Л.Я. Клиническая дерматология. Редкие и атипичные дерматозы. Ереван: Айтастан, 1989.
2. Краснов М.Ю., Тимербаева С.Л., Иллариошкин С.Н. Генетика наследственных форм дистонии. Анн. клин. и эксперим. неврол. 2013; 2: 55–62.
3. Мальмберг С.А., Дадали Е.Л., Жумаханов Д.Б. и др. Синдром ригидного человека с дебютом в грудном возрасте. Нервно-мышечные болезни. 2015; 2: 38–43.
4. Alexopoulos H., Dalakas M.C. A clinical update on the immunopathogenesis of Stiff Person Syndrome. Eur. J. Clin. Invest. 2010; 40: 1018–1025.
5. Arino H., Gresa-Arribas N., Blanco Y. et al. Cerebellar ataxia and glutamic acid decarboxylase antibodies: Immunologic profile and long-term effect of immunotherapy. JAMA Neurol. 2014; 71: 1009–1016.
6. Boronat A., Sabater L., Saiz A. et al. GABAB receptor antibodies in limbic encephalitis and anti-GAD-associated neurologic disorders. Neurology. 2011; 76: 795–800.
7. Braun J., Sieper J. Ankylosing spondylitis. Lancet. 2007; 369 (9570): 1379–1390.
8. Chen Y.-T. Glycogen storage diseases. In: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. (eds). The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Vol. 1. NY: McGraw-Hill, 2001: 1537–1551.
9. Dayalu P., Teener J.W. Stiff Person syndrome and other anti-GAD-associated neurologic disorders. Semin Neurol. 2012; 32: 544–549.
10. Drost G., Verrips A., Hooijkaas H. et al. Glutamic acid decarboxylase antibodies in Satoyoshi syndrome. Ann. Neurol. 2004; 55: 450–451.
11. Ehlayel M.S., Lacassie Y. Satoyoshi syndrome: an unusual postnatal multisystemic disorder. Am. J. Med. Genet. 1995; 57: 620–5.
12. Graus F., Delattre J.Y., Antoine J.C. et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 2004; 75: 1135–1140.
13. Gultekin S.H. Recent developments in paraneoplastic disorders of the nervous system. Surg. Pathol. Clin. 2015; 8: 89–99.
14. Hadjivassiliou M., Sanders D.S., Woodroffe N. et al. Gluten ataxia. Cerebellum. 2008; 7: 494–498.
15. Honnorat J., Saiz A., Giometto B. et al. Cerebellar ataxia with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies. Arch. Neurol. 2001; 58: 225–230.
16. Kono S., Miyajima H., Sugimoto M. et al. Stiff-person syndrome associated with cerebellar ataxia and high glutamic acid decarboxylase antibody titer. Intern. Med. 2001; 40: 968–971.
17. Kuchling J., Shababi-Klein J., Nümann A. et al. GAD antibody-associated late-onset cerebellar ataxia in two female siblings. Case Rep. Neurol. 2014; 6: 264–270.
18. Rakocevic G., Floeter M.K. Autoimmune stiff person syndrome and related myelopathies: Understanding of electrophysiological and immunological processes. Muscle Nerve. 2012; 45: 623–634.
19. Rüegg S.J., Steck A.J., Fuhr P. Levitracetam improves paroxysmal symptoms in a patient with stiff-person syndrome. Neurology. 2004; 62: 338.
20. Saiz A., Blanco Y., Sabater L. et al. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. Brain. 2008; 131: 2553–2563.
21. Sharma B., Nagpal K., Prakash S. et al. Anti-GAD negative stiff person syndrome with a favorable response to intravenous methylprednisolone: An experience over evidence. Neurol India. 2014; 62: 76–77.
22. Ueno S., Miyamoto N., Shimura H. et al. Successful immune moderation treatment for progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus. Intern. Med. 2015; 54: 219–221.
23. Vulliemoz S., Vanini G., Truffert A. et al. Epilepsy and cerebellar ataxia associated with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies. BMJ Case Rep. 2009; 2009: bcr09.2008.0977.
24. Wenninger S., Schoser B. The spectrum of neuromyotonia: clinics, therapy and outcome. Fortschr. Neurol. Psychiatr. 2015; 83: 457–462.
25. Wu Y., Weber J.L., Vladutiu G.D., Tarnopolsky M.A. Six novel mutations in the myophosphorylase gene in patients with McArdle disease and a family with pseudo-dominant inheritance pattern. Mol. Genet. Metab. 2011; 104: 587–591.

## The range of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies

M.Yu. Krasnov, E.V. Pavlov, M.V. Ershova, S.L. Timerbaeva, S.N. Illarioshkin

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

**Keywords:** stiff person syndrome, sporadic ataxia, limbic encephalitis, anti-GAD65 antibodies.

Neurological syndromes caused by production of antibodies to glutamic acid decarboxylase (GAD65) are a relatively new area of modern clinical neurology, which is of great theoretical and practical interest. High titer of identified antibodies is a not al-

ways specific, but highly sensitive, marker for autoimmune CNS disorders. The authors present their own clinical observations and an analysis of the literature on a wide phenotypic range of GAD65-associated pathologies.

**Контактный адрес:** Краснов Максим Юрьевич – асп. V неврол. отделения ФГБНУ НЦН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-21-03; e-mail: merritt.kraut@gmail.com;

Павлов Э.В. – врач-нейрофизиолог лаборатории клинической нейрофизиологии ФГБНУ НЦН;

Ershova M.V. – науч. сотр. V неврологического отд. ФГБНУ НЦН;

Тимербаева С.Л. – рук. V неврологического отд. ФГБНУ НЦН;

Иллариошкин С.Н. – зам. директора по научной работе ФГБНУ НЦН.

# Гибкая эндоскопия в нейрохирургии

А.О. Гуца, М.С. Семенов, А.А. Кашеев, С.О. Арестов, Л.Т. Лепсверидзе

ФГБНУ «Научный центр неврологии»

*Эндоскопическая нейрохирургия – новое и чрезвычайно перспективное направление в хирургическом лечении заболеваний нервной системы, преимуществами которого являются уменьшение выраженности операционной травмы за счет уменьшения доступа при сохранном объеме производимых манипуляций. В статье приводятся первые результаты применения гибкой эндоскопии в хирургическом лечении заболеваний головного и спинного мозга. Показана высокая эффективность данного высокотехнологического подхода и значительно более низкая частота осложнений по сравнению с открытыми вмешательствами.*

**Ключевые слова:** гибкая эндоскопия, хирургия заболеваний нервной системы, ближайшие и отдаленные результаты, осложнения.

**А**ктивное развитие технического прогресса и его применение в нейрохирургии привело к появлению эндоскопических методик, способных при малом размере интраоперационной травмы осуществлять «достаточные» манипуляции в глубине и на поверхности головного и спинного мозга [1, 2–4, 6, 7, 12]. Современная эндоскопия обладает достаточным арсеналом инструментов и оптических систем (эндоскопов) для выполнения различных задач, связанных с инспекцией и визуализацией различных патологических состояний и устранением последних при необходимости. Широкое применение эндоскопические методы нашли при патологии желудочковой системы, особенно связанной с разрешением окклюзионной гидроцефалии у пациентов молодого возраста. Неоспоримыми преимуществами считается лучшая визуализация и освещенность по сравнению с микрохирургическим вмешательством.

Появление гибких фиброскопов, а также гибких нейровидеоэндоскопов с технологией “chip-on-the-tip” позволило осуществить инспекции ликворосодержащих пространств на отдалении от точки доступа и менять оптический угол без смены оптики. Все это позволяет более активно и эффектив-

но использовать эндоскопические методики в практике нейрохирурга как в краниальной, так и в спинальной хирургии.

В настоящей статье суммирован опыт применения гибкой эндоскопии в хирургии головного и спинного мозга, накопленный в отделении нейрохирургии Научного центра неврологии. Принимая во внимание значительные различия между исследуемой технологией в краниальной и спинальной хирургии, мы сочли целесообразным разделить настоящую статью на две тематические части.

## Гибкая эндоскопия в краниальной хирургии

В табл. 1 приведены данные о хирургическом лечении 43 пациентов с различной интракраниальной патологией в возрасте от 19 до 68 лет, оперированных в Научном центре неврологии с марта 2013 г. по сентябрь 2015 г.

Клиническая симптоматика и динамика ее развития представлена в табл. 2.

Хирургическое вмешательство осуществлялось с использованием оборудования, представленного в табл. 3 и на рис. 1.

таблица 1: Клиническая характеристика оперированных пациентов.

Патология	N	Доступ	Используемая оптика и порт
Гипертензивные кровоизлияния с прорывом в желудочковую систему	99	Трефинация в лобной или теменной области с одномоментным использованием второго доступа через трефинацию в точке Кохера	Комбинация ригидной и гибкой эндоскопии через 10- и 6 мм порты
Симптоматические арахноидальные кисты поверхностной локализации	115	Фрезевое отверстие, максимально приближенное к локализации кисты	Гибкая эндоскопия, дополненная в случаях необходимости ригидной эндоскопией
Симптоматические арахноидальные кисты глубокой локализации	55	Фрезевое отверстие в точке Кохера	Гибкая эндоскопия через 6 мм порт
Тригеминальная невралгия с видеоассистенцией	15	Ретросигмовидный (1,5x1,5 см)	Ригидная и гибкая оптика без порта
Болезнь Меньера	16	Трефинация в области астериона	Комбинация гибкой и ригидной эндоскопии, порт 10 мм
Периферический вестибулярный синдром	13	Ретросигмовидный (1,5x1,5 см)	Ригидная, без порта



таблица 2: Клиническая динамика в результате проведенного вмешательства.

Нозологические формы	Ведущие симптомы до вмешательства	Динамика после операции
Гипертензивные кровоизлияния	гемисиндром	частичный регресс
	парез, ограничение взора	полный или частичный регресс
	дизартрия	регресс
	нарушение сознания	ясное сознание
Симптоматические кисты	цефалгический симптом	полный регресс
	симптомы раздражения мозговых оболочек	полный регресс
Тригеминальная невралгия	боли в лице	полный регресс
Болезнь Меньера	головокружения	снижение интенсивности
	тошнота	регресс
	рвота	регресс
Периферический вестибулярный синдром	головокружение	регресс
	шум в ухе	регресс

таблица 3: Использованное оборудование.

Эндоскопы		
	Угол обзора	Диаметр эндоскопа/ рабочего порта
Эндоскоп Karl Storz	0	2,7 мм/6 мм
	30	2,7 мм/6 мм
Фиброскоп Chip-on-tip	0–270	2,8 мм/ –
3D эндоскоп Karl Storz	0	9 мм/10 мм
Gaab, Karl Storz	0	3 мм/6 мм
<b>Интраоперационный томограф Ceretom</b>		
<b>Биполярный и монополярный коагулятор Karl Storz</b>		
<b>Интраоперационная навигация S7 Medtronic</b>		
<b>Эндоскопический порт собственной разработки (диаметром 10 мм)</b>		



рис. 1: Интраоперационная КТ (А). Внешний вид используемых эндоскопов (Б). Порт, разработанный в отделении для эндоскопического удаления гипертензивных гематом (Б).

Все вмешательства осуществлялись из трепаниционного отверстия диаметром 8 или 12 мм. Интраоперационное наложение трепаниции контролировалось при помощи нейронавигации фирмы Medtronic. В случаях использования эндоскопии как ассистенции (при нейроваскулярных конфликтах) использовался ретросигмовидный доступ размером 1,5×1,5 см.

Показанием к хирургическому лечению пациентов с гипертензивными гематомами в остром периоде являлось наличие компрессионного и дислокационных синдромов у пациентов с внутрижелудочковыми кровоизлияниями – нарастание степени окклюзии, а у пациентов в отсроченном периоде – малая эффективность консервативного лечения с сохраняющимся неврологическим дефицитом.

Пациентам с симптоматическими кистами вмешательство проводилось в случае наличия клиники, топически соответствовавшей кисте, и/или наличия гипертензивного цефалгического синдрома. У пациентов с нейроваскулярным конфликтом показанием к хирургическому лечению служили стойкий болевой синдром и выраженная клиника поражения периферической части слухового анализатора.

В результате проведенного эндоскопического лечения у всех пациентов удалось достичь улучшения качества жизни и регресса основных симптомов заболевания, за исключением пациентов с кровоизлияниями. Полный регресс неврологической симптоматики достигнут у 5 (55%) пациентов, у остальных 4 (45%) пациентов на момент перевода в отделение нейрореабилитации имелась умеренная степень инвалидизации, позволившая после курса реабилитационной терапии троем из них (75%) самостоятельно обслуживать себя в пределах комнаты.

Регресс цефалгического синдрома у пациентов с арахноидальными кистами достигнут в 100% случаев. Также полный регресс болевого синдрома достигнут у пациентов с тригеминальной невралгией.

У пациентов с периферическим вестибулокохлеарным синдромом и болезнью Меньера в 100% случаев достигнуто улучшение координаторных функций и регресс приступов системного головокружения.

Ниже приведены примеры выполненных эндоскопических вмешательств.

**Пример № 1** (рис. 2, 3): пациент с гипертензивным кровоизлиянием, прорывом крови в желудочки мозга (одномоментное использование гибкой и ригидной эндоскопии с применением двухпортового метода удаления, разработанного в Научном центре неврологии).

**Пример № 2** (рис. 4): эндоскопическая фенестрация кисты ножки мозга с использованием гибкой эндоскопии через порт, установленный в передний рог правого бокового желудочка.

**Пример № 3** (рис. 5): пациент с нейроваскулярным конфликтом V нерва и выраженными приступами лицевых болей.

**Пример № 4** (рис. 6): пациент после выполнения эндоскопической вестибулотомии при болезни Меньера.

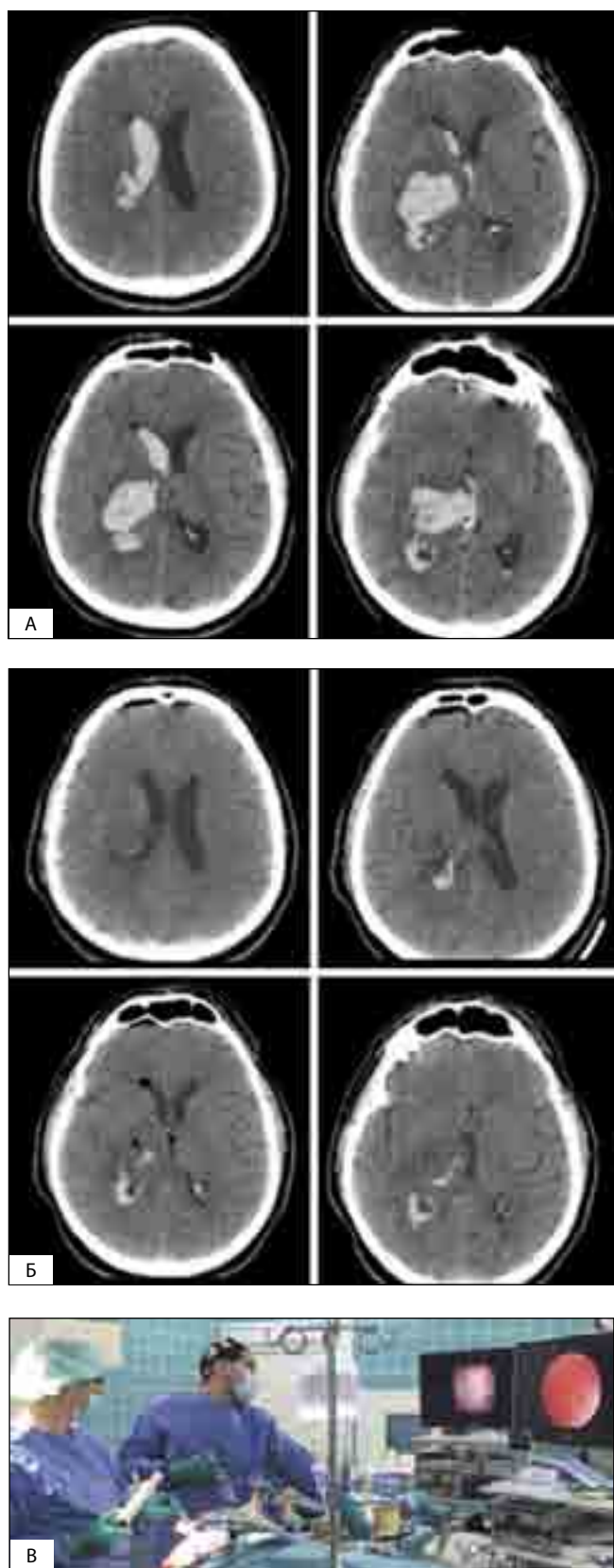


рис. 2: КТ-снимки пациента до (А) и после (Б) удаления гипертензивной гематомы. Внешний вид операционной при одномоментном использовании гибкой и ригидной оптики (В).

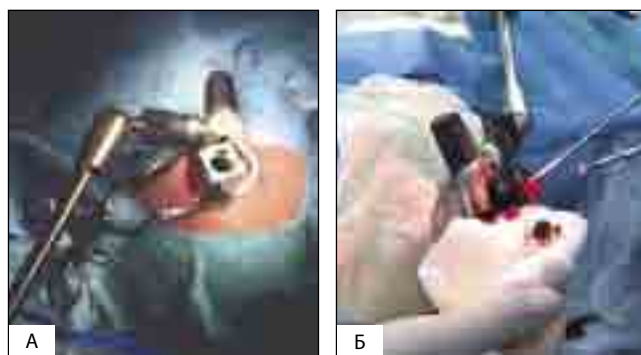


рис. 3: Внешний вид порта и фиксирующего устройства (А), удаление сгустка крови через эндоскопический порт, разработанный в центре (Б).

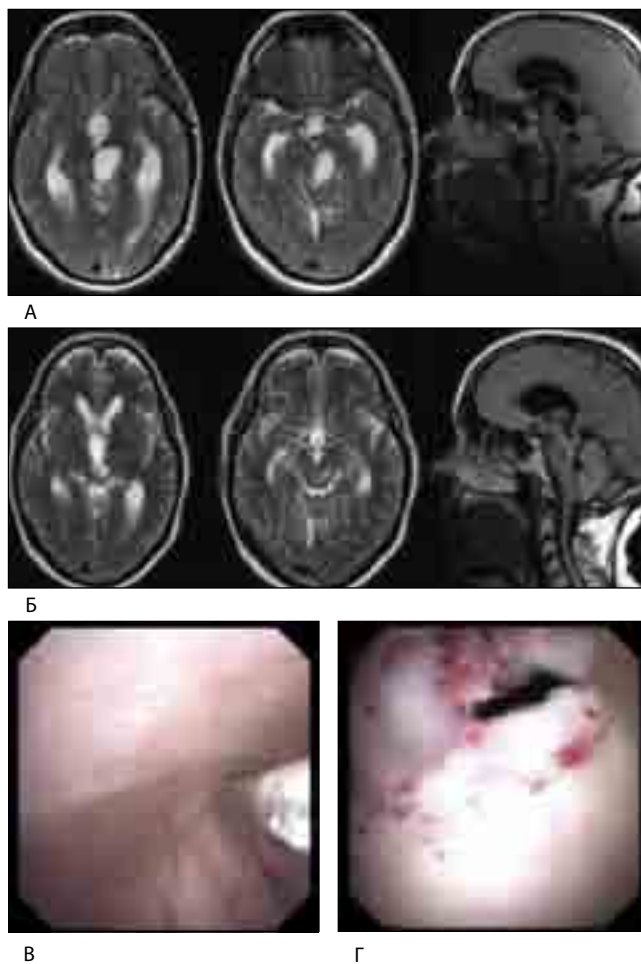


рис. 4: КТ-снимки пациента до (А) и после (Б) проведенного вмешательства. Внешний вид перфорации кисти через гибкий эндоскоп (В, Г).

### Гибкая эндоскопия в спинальной хирургии

В клиническое исследование, связанное с оценкой потенциала гибкой эндоскопии в хирургическом лечении спинальных арахноидитов и арахноидальных кист, нами было включено 42 пациента (23 мужчины, 19 женщин), оперированных с ноября 2009 г. по май 2015 г. включительно. Возраст оперированных больных варьировал от 22 до 69 лет ( $46,8 \pm 12,5$  лет).

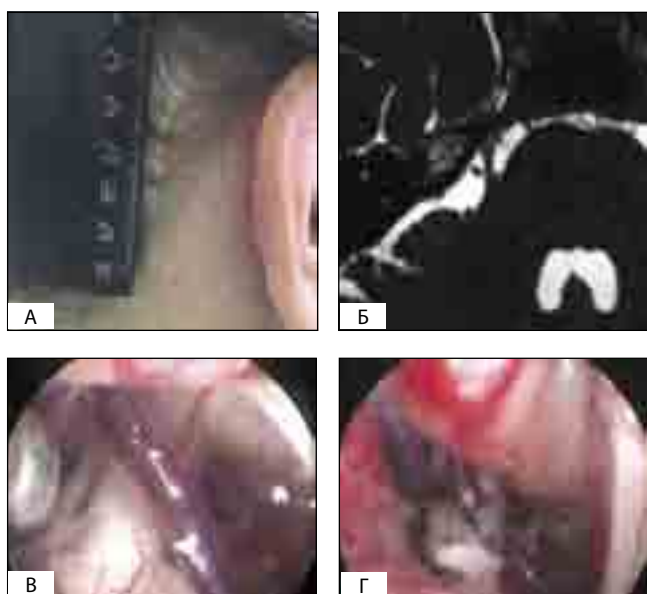


рис. 5: Внешний вид разреза (L = 5 см) (А); МРТ-визуализация нейроваскулярного конфликта (Б); интраоперационные снимки через эндоскоп до и после устранения конфликта (В, Г).

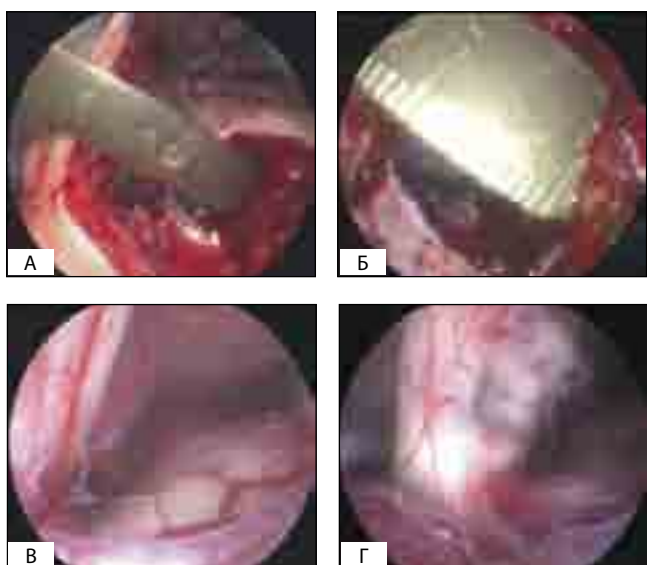


рис. 6: Интраоперационный вид трепанации (12 мм) (А). Внешний вид разреза твердой мозговой оболочки (10 мм) (Б). Внешний вид вестибулокохlearной группы до момента идентификации верхнего вестибулярного нерва (В). Селективная вестибулотомия верхнего вестибулярного нерва (Г).

Данные об этиологических факторах спинальных арахноидитов приведены на рис. 7.

Показания к применению метода:

— адгезивные спинальные арахноидиты и/или арахноидальные спинальные кисты различного генеза, подтвержденные при МРТ, вызывающие проводниковую и/или корешковую симптоматику (имеющую причинно-следственную и топическую связь с результатами МРТ), которая стойко нарушает качество жизни пациента и не поддается консервативной терапии и реабилитационному лечению;

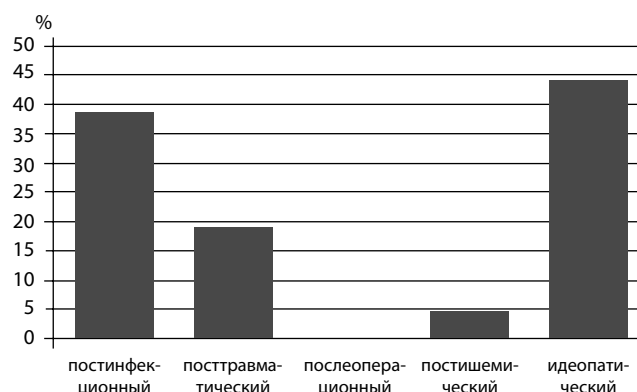


рис. 7: Этиологические факторы арахноидитов у оперированных пациентов.

— сирингомиелия и гидромиелия, связанные с адгезивными процессами в субарахноидальном пространстве спинного мозга;

— посттравматические экстрамедуллярные интрадуральные и экстрадуральные кисты;

— экстрамедуллярные объемные образования (биопсия и видеоассистенция при удалении).

Текалоскопические вмешательства проводились в положении пациента лежа на животе под эндотрахеальным наркозом. В качестве операционного доступа применялись ламинэктомия, интерламинэктомия или флавотомия. Перед текалоскопическим этапом операции возможно осуществление микрохирургической диссекции спаек, облегчающей введение гибкого эндоскопа.

Текалоскопическая визуализация оказалась возможной у всех пациентов. Таким образом, мы можем констатировать, что технических и хирургических ограничений для обзора большого объема субарахноидальных пространств нами не было встречено ни в одном случае. Эндоскопическая фенестрация спаек и стенок арахноидальных кист, а также интратекальная декомпрессия осуществлялись в 88,1% и 85,7% вмешательств соответственно. Практически постоянное использование данных оперативных приемов в нашей группе объясняется их большим значением для устранения ведущего патофизиологического механизма исследуемой нозологии — фиксации спинного мозга и его корешков, нарушений ликвороциркуляции.

При осуществлении вмешательств нами применялись следующие основные технические приемы:

1) Минимально инвазивная эндоскопическая визуализация. Текалоскопия позволяет достоверно убедиться в наличии тех или иных морфологических изменений (спайки, кисты и пр.) (рис. 8), ревизовать обширные области субарахноидального пространства по длиннику и поперечнику (рис. 9), уточнить топографический характер спаек и кист (рис. 10), протяженность, возможность и способ их эндоскопического или микрохирургического устранения.

2) Интратекальная декомпрессия. При помощи текалоскопии возможно минимально инвазивно осуществить манипуляции по устранению фиксации спинного мозга и его корешков спайками.



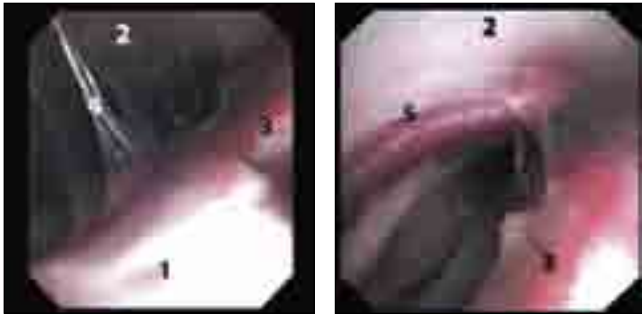


рис. 8: Видеоэндоскопия. Дорсальное субдуральное пространство грудного отдела на уровне Th10-Th11.  
1 – арахноидальная оболочка; 2 – твердая мозговая оболочка; 3 – спинномозговой корешок; 4 – арахноидальная спайка; 5 – корешковая артерия.

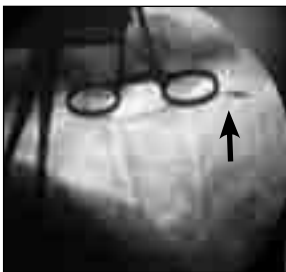


рис. 9: Интраоперационная рентгенография. Стрелкой отмечен дистальный конец гибкого эндоскопа, находящийся в вентральном субарахноидальном пространстве.



рис. 10: Видеоэндоскопия. Вентральное субарахноидальное пространство на уровне нижнегрудного отдела позвоночника.  
1 – арахноидальная киста (указана на МРТ стрелкой); 2 – спинномозговой корешок; 3 – твердая мозговая оболочка.

3) Эндоскопическая фенестрация. Манипуляции по восстановлению ликворциркуляции (пассажа спинномозговой жидкости) сводятся к эндоскопическому бужированию субарахноидального и субдурального пространств, т.е. к фенестрации стенок кист и спаек (рис. 11). Основным клинический смысл фенестрации сводится к устранению масс-эффекта и связанной с ним компрессионной неврологической симптоматики. Интратекальная декомпрессия и фенестрация спаек и кист могут производиться как в дорсальном, так и в вентральном отделах спинального субарахноидального пространства.

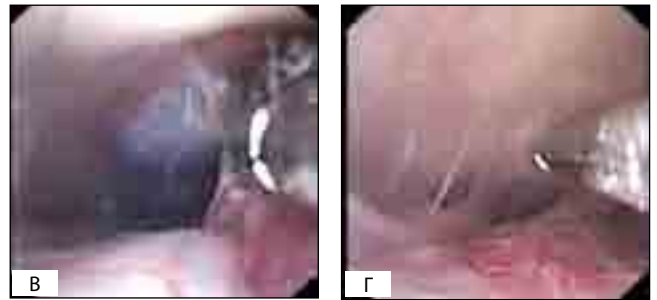
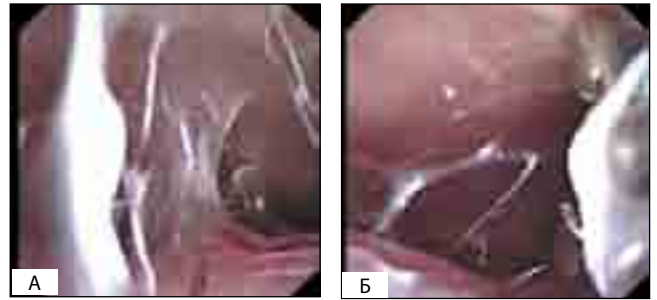


рис. 11: Разделение арахноидальных спаек: А – спайки, фиксирующие корешки спинного мозга; Б – захват спайки (биопсийные щипцы в разомкнутом виде); В – интратекальная декомпрессия; Г – спайка фенестрирована.

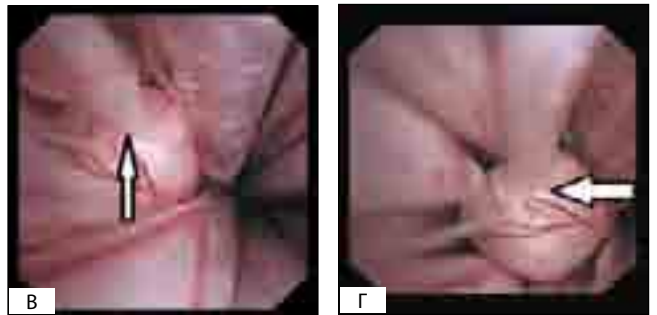
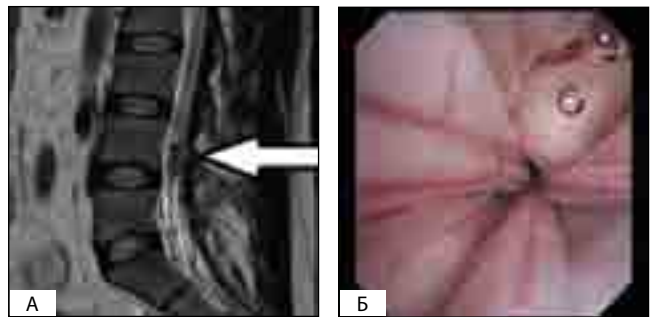


рис. 12: Текалоскопия у пациента с множественными экстрамедуллярными опухолями (нейрофиброматоз). Визуализируется объемное образование на уровне L4 (нейрофиброма). Хорошо заметны его полюса, анатомические взаимоотношения со спинномозговыми корешками, а также корешок, являющийся источником роста опухоли (отмечен стрелкой).

4) Интрамедуллярная декомпрессия. При текалоскопии возможно минимально инвазивное разделение спаек, формирующих синдромную полость. Поскольку данный прием требует проведения миелотомии, он осуществляется только у ограниченной категории пациентов с напряженными синдромными кистами, оказывающими выраженный масс-эффект.

5) Эндоскопическая видеоассистенция. В тех случаях, когда удаление кисты по тем или иным причинам производится микрохирургическим путем, текалоскопия позволяет уточнить интраоперационную тактику действий хирурга, увеличить их безопасность и снизить продолжительность операции.

6) Эндоскопическая биопсия. Текалоскопия позволяет производить минимально инвазивный забор образцов тканей для гистологического, иммуногистохимического и прочих исследований (рис. 12). Возможна биопсия спаек и кист для уточнения характера их структуры и происхождения, а также экстрамедуллярных опухолей.

При оценке боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) у оперированных больных исходный уровень выраженности боли составил  $3,9 \pm 2,8$  баллов. При выписке данный показатель снизился до  $2,5 \pm 2,0$  баллов, а через 12 мес он оказался  $1,6 \pm 1,4$  баллов ( $p < 0,05$ ). Также отмечалось статистически значимое снижение выраженности двигательной симптоматики: в соответствии с оценкой по Шкале ограничения возможностей, исходное значение данного параметра составило  $1,4 \pm 0,9$  баллов, при выписке –  $0,9 \pm 0,6$  баллов, а через 12 мес –  $0,6 \pm 0,6$  баллов ( $p < 0,05$ ). При анализе чувствительной сферы (ВАШ-шкала чувствительности) среднее значение при поступлении составило  $4,5 \pm 2,5$  баллов, при выписке из стационара –  $3,8 \pm 2,5$  баллов, через 12 мес после операции –  $2,6 \pm 2,2$  баллов ( $p < 0,05$ ). Указанная неврологическая динамика сопровождалась статистически значимым улучшением качества жизни (по шкале Euro-

QoL-5D): среднее значение до операции –  $0,5 \pm 0,1$  баллов, при выписке –  $0,6 \pm 0,1$  баллов, через 12 мес –  $0,7 \pm 0,1$  баллов ( $p < 0,05$ ).

Из 42 пациентов осложнения и неблагоприятные явления развились у пяти (11,9%); они включали один случай раневой ликвореи, один рецидив спаечного процесса и три случая нарастания послеоперационной симптоматики. При этом стойкое нарастание неврологической симптоматики через 12 мес отмечалось только у двух пациентов (4,76%). Таким образом, частота неблагоприятных явлений, осложнений и нарастания неврологической симптоматики в группе текалоскопических вмешательств оказалась значительно ниже, чем в группе открытых вмешательств, описанной группой J. Klekamp [9–11]. Эти результаты в целом соответствуют данным зарубежных авторов о первых опытах применения текалоскопии [5, 8].

Применение гибких эндоскопических методов у пациентов с краниальной и спинальной патологиями позволило увеличить эффективность проводимых вмешательств и снизить степень выраженности хирургической травмы за счет уменьшения доступа при сохранном объеме производимых манипуляций. Современные возможности эндоскопии позволяют проводить вмешательства у пациентов разных нозологий с сохранением высокой эффективности и уменьшением степени выраженности хирургической агрессии. Дальнейшее использование методов и получение новых навыков, по нашему мнению, позволит расширить спектр применения методик с сохранением их высокой эффективности.

## Список литературы

1. Гуца А.О., Арестов С.О. Торакоскопические операции на позвоночнике. Нейрохирургия. 2011; 1: 12–19.
2. Карахан В.Б. Диагностическая и оперативная внутричерепная эндоскопия (экспериментальное исследование). Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1989.
3. Кащеев А.А., Арестов С.О., Гуца А.О. Гибкая эндоскопия в хирургическом лечении спинальных адгезивных арахноидитов и арахноидальных кист. Журн. вопр. нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2013; 5: 44–55.
4. Меликян А. Г., Арутюнов Н.В., Мельников А.В. и др. Эндоскопическая фенестарция супраселлярных арахноидальных кист. Украинский нейрохирург. журн. 2001; 4: 99–103.
5. Jensen F., Knudsen V., Troelsen S. Recurrent intraspinal arachnoid cyst treated with a shunt procedure. Acta Neurochir. 1977; 39: 127–129.
6. Jimenez D.F. Intracranial endoscopic neurosurgery. AANS. 1998; 5:185–194.
7. Hellwig D. Endoscopy in neurosurgery. Dtsch. Arztebl. 2007; 104: 185–191.
8. Kawachi Y., Yone K., Sakou T. Myeloscopic observation of adhesive arachnoiditis in patients with lumbar canal spinal stenosis. Spinal Cord. 1996; 34: 403–410.
9. Klekamp J. The pathophysiology of syringomyelia – historical overview and current concept. Acta Neurochir. 2002; 144: 649–664.
10. Klekamp J., Batzdorf U., Samii M., Bothe H.W. Treatment of syringomyelia associated with arachnoid scarring caused by arachnoiditis or trauma. J. Neurosurg. 1997; 86: 233–240.
11. Klekamp J., Samii M. Syringomyelia: diagnosis and treatment. Springer, 2002.
12. Nezhat C. History of endoscopy. Tuttingen, 2011.

## Flexible endoscopy in neurosurgery

A.O. Gushcha, M.S. Semenov, A.A. Kashcheev, S.O. Arestov, L.T. Lepsveridze

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia*

**Keywords:** flexible endoscopy, surgery of nervous system diseases, short-term and long-term outcomes, complications.

Endoscopic neurosurgery is a new and extremely promising area in surgical treatment of nervous system diseases. The advantages of the technique are associated with decreased severity of a surgical trauma due to a smaller approach, but with the preserved amount of performed manipulations. The article presents the

first results of application of flexible endoscopy in the surgical treatment of diseases of the brain and spinal cord. A high efficacy of this high-tech approach and a significantly lower rate of complications compared to open surgery are demonstrated.

**Контактный адрес:** Гуща Артем Олегович – докт. мед. наук, профессор, зав. нейрохирургич. отделением ФГБНУ НЦН. Москва 125367, Волоколамское ш., д. 80. E-mail: agou@endospine.ru;

Семенов М.С. – науч. сотр. нейрохирургич. отд. ФГБНУ НЦН;

Кашчев А.А. – науч. сотр. нейрохирургич. отд. ФГБНУ НЦН;

Арестов С.О. – ст. науч. сотр. нейрохирургич. отд. ФГБНУ НЦН;

Лепсверидзе Л.Т. – врач-нейрохирург ФГБНУ НЦН.

# Эндогенные ретровирусы: от фундаментальных исследований к этиотропной терапии рассеянного склероза

М.Н. Захарова, Д.Ю. Логунов, И.А. Кочергин, И.С. Бакулин

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва); ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (Москва)

*Ретровирусы – это РНК-содержащие вирусы, встраивающие свой геном в геном клетки организма хозяина. Гены ретровирусов составляют 9,3% генома человека и могут влиять на его функционирование за счет изменения структуры и стабильности локусов, привнесения новых регуляторных элементов, а также через экспрессию ретровирусных генов. В настоящее время активно изучается функциональная роль эндогенных ретровирусов в норме и при различных заболеваниях. В статье отражены современные представления о роли ретровирусов в развитии рассеянного склероза и открывающиеся в связи с этим перспективы этиотропной терапии.*

**Ключевые слова:** эндогенные ретровирусы, рассеянный склероз, демиелинизация, этиотропная терапия.

Этиология демиелинизирующих заболеваний до настоящего времени остается неизвестной. Общепринятое мнение о мультифакториальности этих заболеваний предполагает в том числе значимую роль человеческих эндогенных ретровирусов (HERV, от англ. *human endogenous retroviruses*) в их развитии [10].

Ретровирусы – это РНК-содержащие вирусы, встраивающие свой геном в геном клетки организма хозяина. Для репликации своего генома ретровирусы используют механизм обратной транскрипции для синтеза копий ДНК. Как правило, ретровирусы инфицируют соматические клетки. Однако некоторые из них в результате инфекции могут попадать в клетки зародышевого пути; в этом случае интегрированные вирусные гены наследуются по тем же законам, что и остальные гены организма [11, 24].

В процессе эволюции происходили многократные вспышки ретровирусных инфекций и, если функции важных для выживания вида генов не были нарушены, то геном ретровирусов в составе генетического материала организма передавался последующим поколениям. Согласно современным представлениям около 9,3% генома человека состоит из геномов HERV и их остатков [10]. Со временем в генах HERV накапливались мутации, которые привели к нарушениям в экспрессии большей части вирусных белков и в конечном итоге к утрате способности образовывать зрелые инфекционные частицы. Однако часть эндогенных ретровирусов сохранила способность к транспозиции, экспрессии некоторых белков и образованию вирионов [19].

В настоящее время накоплено много свидетельств того, что HERV могут влиять на функционирование человеческого генома за счет изменения структуры и стабильности локусов генома, привнесения новых регуляторных элементов, а также через экспрессию ретровирусных генов [10].

В активации HERVs могут играть роль различные факторы: инфекционные, физические, токсические (наиболее важные из них представлены в табл. 1).

Первые работы по изучению генома HERV были проведены в лаборатории М.А. Martin в 1981 г. [18]. В последние годы резко возрос интерес к роли HERV в развитии таких заболеваний, как злокачественные опухоли, аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания, сахарный диабет 1-го типа и др. [20]. Помимо HERV в геноме человека выявлены множественные последовательности вируса герпеса 6-го типа, вируса болезни Борна, вероятно ассоциированного с психическими заболеваниями человека [11, 14].

Наиболее значимыми во всех HERV являются 4 гена:

1. *Gag*, кодирующий матриксные (MA), капсидные (CA) и нуклеокапсидные (NC) протеины.
2. *Pro*, кодирующий вирусную протеазу (PR).
3. *Pol*, кодирующий обратную транскриптазу (RT) и интегразу.
4. *Env*, кодирующий гликопротеины с поверхностными и трансмембранными субъединицами.

В настоящее время распространение получили несколько систем классификации эндогенных ретровирусов. Одна из них основана на специфичности тРНК, используемой ретровирусом в качестве праймера в процессе обратной транскрипции. Например, HERV-K (праймер – лизиновая тРНК), HERV-H (праймер – гистидиновая тРНК) и т.д. Согласно данной классификации выделяют 31 семейство эндогенных ретровирусов. Другая система классификации HERV основана на степени гомологии их нуклеотидной последовательности между собой и в сравнении с известными экзогенными ретровирусами [1]. Наиболее консервативные последовательности находятся в гене *pol*, но иногда для построения классификаций используют последовательности *gag*, *env* или протеазного домена, хотя они менее консервативны. С помощью данного подхода HERV были



таблица 1: Активаторы экспрессии эндогенных ретровирусов человека (адаптировано из Emmer и соавт., 2014.).

Фактор	Эндогенный ретровирус	Модель
Аспирин	HERV-W	линия клеток нейробластомы
Кофеин	HERV-W	линия клеток нейробластомы
Вирус Эпштейн-Барр, взаимодействие с CD21	HERV-K18	покоящиеся В-клетки
Вирус Эпштейн-Барр LMP2A	HERV-K18	линии клеток лимфобластомы и лимфомы Беркитта
Вирус простого герпеса 1-го типа	HERV-K; HERV-W	линия клеток тератокарциномы линия клеток нейробластомы
Цитомегаловирус	разные вирусы	эндотелиальные клетки, моноциты
Герпесвирус 6А	HERV-K18	линия клеток Т-лимфобластной лейкемии
Герпесвирус 6В	HERV-K18	моноклеары
Вирус иммунодефицита человека	HERV-K	лимфоциты периферической крови
Человеческий Т-лимфотропный вирус	разные вирусы	линия клеток Т-клеточной лейкемии
Гипоксия	HERV-R	линия клеток лимфомы Ходжкина
Вирус гриппа А	HERV-W	культура клеток фибробластов
Ионизирующее излучение	HERV-R	линия клеток эмбриональной почки
Ретиноевая кислота	HERV-W	линия клеток хориокарциномы
Токсоплазма гондии	разные вирусы	линия клеток саркомы Эвинга
Фактор некроза опухолей альфа	HERV-W	линия клеток глиомы
Ультрафиолетовое излучение	HERV-K	линия клеток кератиноцитов, линия клеток меланомы

разделены на 3 группы (группа I, группа II, группа III), которые включают не только вирусы млекопитающих, но также вирусы рептилий, амфибий, птиц и т.д. [24].

Сегодня известно, что около половины генома человека представлено мобильными элементами, обеспечивающими его многообразие и пластичность. Эти мобильные элементы, в т.ч. и HERV, при интеграции в геном человека способны изменять регуляторные участки генов, участвовать в репарации ДНК, сплайсинге, изменять экспрессию генов. HERV являются мобильными переносчиками транскрипционных регуляторных элементов, что объясняет их возможность влиять на экспрессию генов, особенно молодых в эволюционном отношении (в частности, генов системы HLA, влияющих на иммунный ответ) [11].

Кроме того, некоторые HERV кодируют белки, сходные с трансмембранными протеинами и обладающие иммуносупрессивными свойствами. Экспрессия подобных белков может обеспечивать нарушение функции натуральных киллеров, что является одним из механизмов нарушения иммунной толерантности. Изменение регуляторных функций онкогенов или инактивация генов-супрессоров опухолевого роста может являться пусковым фактором канцерогенеза. Нарушение экспрессии генов и синтез белковых продуктов с измененной структурой может лежать в основе развития нейродегенеративных заболеваний [10].

Регуляция экспрессии HERV в центральной нервной системе определяется рядом факторов: полиморфизмом, антиретровирусными механизмами клеточной защиты. Сохраняющаяся потенциальная активность HERV поддается через эпигенетические модификации ДНК. Альтернативный путь – ингибирование транскрипции HERV с участием ретровирусных факторов рестрикции. При боковом амиотрофическом склерозе важную роль может играть мутация TDP-43, которая может приводить к активации HERV и развитию заболевания [12, 20].

В табл. 2 представлены неврологические и психические заболевания, ассоциированные с активацией HERV.

таблица 2: HERV, ассоциированные с неврологическими и психическими заболеваниями.

HERV	Заболевания	Триггеры	Патогенез
HERV-W	рассеянный склероз шизофрения	герпесвирусы токсоплазма провоспалительные цитокины	вирионы MSRV Env суперантиген – изменение функций глии
HERV-H/F	рассеянный склероз	не установлены	Env суперантиген
HERV-K	шизофрения боковой амиотрофический склероз ВИЧ-инфекция	герпесвирусы токсоплазма человеческий Т-лимфотропный вирус	Env суперантиген

Интерес к HERV при рассеянном склерозе (РС) возник с получением данных о связи HERV с определенными локусами системы HLA, ассоциированными с развитием этого заболевания.

В 1989 г. Н. Pagon и соавт. выделили из лептоменингеальных клеток больных с РС так называемые РС-ассоциированные ретровирусы (MSRV, от англ. *multiple sclerosis retroviruses*) [21]. В дальнейшем было показано, что этот ретровирус представляет собой химерную форму HERV-M и ERV-9 и относится к новому семейству HERV-W. Получены данные о способности MSRV к репликации и формированию вирусных частиц. В последующем в нервной системе больных с РС были идентифицированы антигены и других HERV, а именно HERV H/F. Было обнаружено, что количество частиц и копий РНК эндогенных ретровирусов семейств MSRV и HERV-H повышается у больных РС по сравнению с контролем [5, 6]. Однако возможно, что несколько HERV локусов способствуют этому и активизируются у больных РС, поскольку обнаруживаются гетерогенные нуклеотидные последовательности.

Пациенты с РС, в сыворотках и образцах из ЦНС которых были обнаружены детектируемые уровни MRSV, составили до 50% в группе из Франции [13] и до 100% в группе из Сардинии [25]. Также MRSV определялся в крови 6% здоровых добровольцев, некоторых больных биполярным расстройством, 40% больных другими неврологическими заболеваниями и у 22% пациентов с ревматоидным артритом в синовиальной жидкости. Повышение экспрессии MSRV в тканях мозга больных РС и увеличение числа копий MSRV в крови были ассоциированы с плохим прогнозом РС [20, 22].

Было показано, что повышение экспрессии MSRV может индуцироваться воспалительными агентами [22, 23, 25]. Например, у больных РС экспрессия MSRV увеличивается в присутствии HHV-6. Кроме того, экспрессия белков MSRV, например, *pol* и *env*, также приводит к развитию мощного воспалительного ответа [22]. Свидетельством этому служит тот факт, что ни один из больных РС, которому вводили противовоспалительные препараты, не имел детектируемых уровней MSRV [13]. Также было показано, что терапия  $\beta$ -интерфероном уменьшает количество MSRV в плазме крови и индекс прогрессирования РС. У пациентов с РС, у которых была обнаружена активность обратной транскриптазы, выявлен токсин, приводящий к гибели глиальных клеток. Данный токсин, названный глиотоксином, был также обнаружен в цереброспинальной жидкости больных РС и, как показали дальнейшие исследования, ассоциирован с РНК MSRV. Это открытие позволяет предполагать прямую провоспалительную роль продуктов генов MSRV [12].

Патогенность вирусных частиц MSRV была оценена в нескольких экспериментах на иммунодефицитных мышках, которым прививали лимфоциты человека и перитонияльно вводили вирионы MRSV. У животных развивались церебральные геморрагии, и они погибали через 5–10 дней после инфекции. Обнаружена циркуляция РНК MSRV в крови мышья, а также повышенная экспрессия трансформирующего ростового фактора  $\beta$  в селезенке. Результаты данного исследования показали, что вирионы MSRV, выделенные от пациентов с РС, могут обладать потенциальными иммунопатогенетическими свойствами, опосредованными Т-клетками. Патогенные свойства MSRV также связаны с индукцией ответа врожденной иммунной системы через активацию TLR (от англ. *toll-like receptor*) [22].

Другим белком, представляющим значительный интерес, является синцитин. J.M. Antony и соавт. обнаружили, что уровни мРНК синцитина и самого белка значительно выше в образцах тканей мозга, взятых от больных РС, по сравнению с образцами, полученными от пациентов с болезнью Альцгеймера, ВИЧ-энцефалитом или здоровых добровольцев. При этом экспрессия синцитина увеличивалась в астроцитах и микроглии и была ассоциирована с повреждением олигодендроцитов. При культивировании человеческих астроцитов или микроглии с добавлением форболового эфира (для активации клеток) экспрессия синцитина увеличивалась [3, 15]. Повышение экспрессии этого белка в астроцитах и макрофагах привело к увеличению продукции провоспалительного цитокина интерлейкина-1 $\beta$  и реактивных радикалов кислорода. Культуральная среда из астроцитов с повышенной экспрессией синцитина была токсична для олигодендроцитов. Однако эту токсичность можно было нивелировать добавлением феруловой кислоты, которая обладает антиоксидантными свойствами, а также добавлением противовоспалительных препаратов и ингибиторов оксида азота.

Для того чтобы определить, может ли синцитин быть причиной демиелинизации в условиях *in vivo*, авторы вводили вирусный вектор, экспрессирующий синцитин в мозолистое тело мышья [2]. В итоге инфицированные астроциты экспрессировали большое количество синцитина, вызывая повреждение олигодендроцитов и нарушение их функции. Когда мышам вводили феруловую кислоту, астроциты по-прежнему экспрессировали синцитин, но повреждения олигодендроцитов не происходило.

В настоящее время из 30 известных семейств HERV только несколько ассоциировано с развитием РС. Тесная связь развития РС и его обострений с повышенной инсоляцией или носительством некоторых герпесвирусов, которые являются известными активаторами HERVs (табл. 1), может указывать на триггерную роль этих факторов в активации HERV у пациентов с РС [12, 16, 17]. Трансактивация HERV вирусами семейства герпеса реализуется через транскрипционный фактор ICP0 (*immediate early protein 0*) [20].

При РС и других аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка, псориаз) было показано, что HERV могут играть роль суперантигенов и вызывать поликлональную продукцию Т-лимфоцитов [4]. Например, в MSRV-Env было идентифицировано 3 домена (сигнальный пептид, поверхностный Su и трансмембранный ТМ домены). Su домен является агонистом Toll-подобного рецептора-4 (TLR-4), способен нарушать функциональную роль этого рецептора в формировании иммунного ответа и приводит к развитию аутоиммунных реакций. Белок MSRV-Env является мощным индуктором созревания дендритных клеток и поддерживает созревание Th1-лимфоцитов.

Помимо клеточной активации, вызванной HERV-W Env, повышенная продукция антител против антигенов HERV зарегистрирована в ликворе и сыворотке больных РС. Была идентифицирована экспрессия поверхностных HERV Env протеинов в В-клетках и моноцитах, коррелирующая с интенсивностью гуморального ответа. Не исключено, что интраклеточный синтез олигоклональных иммуноглобулинов частично обусловлен анти-HERV реактивностью [12].

Активация TLR-4 под действием генного продукта MSRV Env приводит к увеличению экспрессии транскрипционных факторов, индуцибельной NO-синтазы, увеличению синтеза провоспалительных цитокинов, свободнорадикальных соединений, в т.ч. супероксида и пероксинитрита. Пероксинитрит может играть ключевую роль в повреждении тирозинсодержащих ферментов, ингибировать дифференцировку олигодендроцитов и ремиелинизацию [14]. У больных с РС показана экспрессия MSRV-Env в макрофагах и активных очагах на разных этапах демиелинизирующего процесса [4, 12].

В связи с этим разработана новых методов таргетной терапии, направленная на уменьшение активности и экспрессии эндогенных ретровирусов, являемых первым этапом этиотропной терапии РС и других заболеваний. Препарат моноклональных антител GNbAC1 является гомонизированным рекомбинантным антителом, селективно связывающимся с эпитопом Su домена MSRV-Env протеина. Основной механизм действия препарата обусловлен предотвращением взаимодействия MSRV-Env с TLR-4 иммунокомпетентных клеток. В то же время в экспериментальных условиях показано, что при введении препарата наблюдается увеличение активности TLR-4 [8].

К настоящему времени проведены I и II фазы исследования препарата на здоровых добровольцах и пациентах с РС с прогрессирующими формами заболевания, которые показали удовлетворительную переносимость и безопасность препарата [9]. В моделях *in vitro* и *in vivo* было доказано, что препарат GNBAC1 оказывает двойной эффект: ингибирует каскад воспалительных реакций и оказывает протективное

действие на олигодендроциты на стадии их предшественников [8].

Таким образом, открытие данных о нарастании экспрессии эндогенных ретровирусов при РС и разработка лекарственных препаратов, влияющих на их экспрессию, открывают новые возможности этиотропной терапии РС.

## Список литературы

1. Andersson M.L., Lindskog M., Medstrand P. et al. Diversity of human endogenous retrovirus class II-like sequences. *J Gen Virol.* 1999; 80 (1): 255–260.
2. Antony J.M., van Marle G., Opii W. et al. Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redox reactants causes oligodendrocyte death and demyelination. *Nat Neurosci.* 2004; 7(10): 1088–1095.
3. Antony J.M., Zhu Y., Izad M. et al. Comparative expression of human endogenous retrovirus-W genes in multiple sclerosis. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007; 23 (10): 1251–1256.
4. Balada E., Vilardell-Tarrés M., Ordí-Ros J. Implication of human endogenous retroviruses in the development of autoimmune diseases. *Int Rev Immunol.* 2010; 29 (4): 351–370.
5. Christensen T., Tønjes R.R., zur Megede J. et al. Reverse transcriptase activity and particle production in B lymphoblastoid cell lines established from lymphocytes of patients with multiple sclerosis. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1999; 15(3): 285–315.
6. Christensen T. HERVs in neuropathogenesis. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2010; 5 (3): 326–335.
7. Clausen J. Endogenous retroviruses and MS: using ERVs as disease markers. *Int MS J.* 2003; 10 (1): 22–28.
8. Curtin F., Perron H., Faucard R. et al. Treatment Against Human Endogenous Retrovirus: A Possible Personalized Medicine Approach for Multiple Sclerosis. *Mol Diagn Ther.* 2015; 19 (5): 255–265.
9. Derfuss T., Curtin F., Guebelin C. et al. A phase IIa randomized clinical study testing GNBAC1, a humanized monoclonal antibody against the envelope protein of multiple sclerosis associated endogenous retrovirus in multiple sclerosis patients – a twelve month follow-up. *J Neuroimmunol.* 2015; 285: 68–70.
10. Dolei A., Perron H. The multiple sclerosis-associated retrovirus and its HERV-W endogenous family: a biological interface between virology, genetics, and immunology in human physiology and disease. *J Neurovirol.* 2009; 15 (1): 4–13.
11. Douville R.N., Nath A. Human endogenous retroviruses and the nervous system. *Handb Clin Neurol.* 2014; 123: 465–485.
12. Emmer A., Staegle M.S., Kornhuber M.E. The retrovirus/superantigen hypothesis of multiple sclerosis. *Cell Mol Neurobiol.* 2014; 34 (8): 1087–1096.
13. Garson J.A., Tuke P.W., Giraud P. et al. Detection of virion-associated MSR-V-RNA in serum of patients with multiple sclerosis. *Lancet.* 1998; 351 (9095): 33.
14. Hon G.M., Erasmus R.T., Matsha T. et al. Multiple sclerosis-associated retrovirus and related human endogenous retrovirus-W in patients with multiple sclerosis: a literature review. *J Neuroimmunol.* 2013; 263 (1–2): 8–12.
15. Kudo Y., Boyd C.A., Sargent I.L., Redman C.W. Hypoxia alters expression and function of syncytin and its receptor during trophoblast cell fusion of human placental BeWo cells: implications for impaired trophoblast syncytialisation in pre-eclampsia. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1638 (1): 63–71.
16. Mameli G., Madeddu G., Mei A. et al. Activation of MSR-V-type endogenous retroviruses during infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus latency: the missing link with multiple sclerosis? *PLoS One.* 2013; 8 (11): e78474.
17. Mameli G., Poddighe L., Mei A. et al. Expression and activation by Epstein Barr virus of human endogenous retroviruses-W in blood cells and astrocytes: inference for multiple sclerosis. *PLoS One.* 2012; 7 (9): e44991.
18. Martin M.A., Bryan T., Rasheed S. et al. Identification and cloning of endogenous retroviral sequences present in human DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981; 78 (8): 4892–4896.
19. Moyes D., Griffiths D.J., Venables P.J. Insertional polymorphisms: a new lease of life for endogenous retroviruses in human disease. *Trends Genet.* 2007; 23 (7): 326–333.
20. Nissen K.K., Laska M.J., Hansen B. et al. Endogenous retroviruses and multiple sclerosis-new pieces to the puzzle. *BMC Neurol.* 2013; 13: 111.
21. Perron H., Garson J.A., Bedin F. et al. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94 (14): 7583–7588.
22. Rolland A., Jouvin-Marche E., Saresella M. et al. Correlation between disease severity and *in vitro* cytokine production mediated by MSR-V (multiple sclerosis associated retroviral element) envelope protein in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2005; 160 (1–2): 195–203.
23. Saresella M., Rolland A., Marventano I. et al. Multiple sclerosis-associated retroviral agent (MSRV)-stimulated cytokine production in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2009; 15 (4): 443–447.
24. Sunsova M., Garazha A., Ivanova A. et al. Molecular functions of human endogenous retroviruses in health and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2015; 72 (19): 3653–3675.
25. Serra C., Sotgiu S., Mameli G. et al. Multiple sclerosis and multiple sclerosis-associated retrovirus in Sardinia. *Neurol Sci.* 2001; 22 (2): 171–173.
26. Serra C., Mameli G., Arru G. et al. *In vitro* modulation of the multiple sclerosis (MS)-associated retrovirus by cytokines: implications for MS pathogenesis. *J Neurovirol.* 2003; 9 (6): 637–643.

## Endogenous retrovirus: from fundamental studies to etiotropic therapy of multiple sclerosis

M.N. Zakharova, D.Y. Logunov, I.A. Kochergin, I.S. Bakulin

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia*

**Keywords:** endogenous retroviruses, multiple sclerosis, demyelination, etiotropic therapy.

Retroviruses are a single-stranded RNA viruses that introduce their genes into host cells genome. Genes of retroviruses compose 9.3% of human genome. These genes may influence human genome activity by changing its structure and stability, introducing regulatory elements and expression of retroviral genes.

Recently role of endogen retroviruses in human disease is studied. This article presents an overview of the role of retroviruses in the development of multiple sclerosis and potential approaches to etiotropic therapy.

**Контактный адрес:** Захарова Мария Николаевна – докт. мед. наук, и.о. руководителя VI неврологического отделения ФГБНУ НЦН. 125367, Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (495) 490-24-13, e-mail: bakulinilya@gmail.com;

Логунов Д.Ю. – зав. лаб. клеточной микробиологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»;

Кочергин И.А. – асп. ФГБНУ НЦН;

Бакулин И.С. – асп. ФГБНУ НЦН.

# Современные тенденции в развитии метода локальной фиксации потенциала: новые возможности для нейрофармакологии и нейробиологии

А.Н. Шуваев, В.В. Салмин, Н.В. Кувачева, Е.А. Пожиленкова, А.Б. Салмина

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

*Метод локальной фиксации потенциала (МЛФП) – это золотой стандарт в исследовании процессов, проходящих на мембранах раздражимых клеток, как в физиологическом состоянии, так и при патологии. Однако получение такой уникальной информации связано с определенными трудностями. Этот метод очень трудоемок, требует высококвалифицированных специалистов и дорогостоящего оборудования, что значительно ограничивает его внедрение в широкую практику нейробиологической лаборатории. В статье рассматриваются основные достоинства и недостатки МЛФП, а также тенденции в усовершенствовании техники фиксации клеточной мембраны с помощью электродов и его вклад в развитие нейрофармакологии и нейробиологии.*

**Ключевые слова:** метод локальной фиксации потенциала, нейробиология, нейрофармакология.

## Введение

Метод локальной фиксации потенциала (МЛФП, patch clamp) – это вершина человеческого изобретательства в изучении так называемого «животного электричества». Исторический путь этот метод начал с описания электрических явлений в физиологии животных. В течение долгого времени ничего не было известно об ионных каналах, мембранном потенциале, и запись проводилась с помощью грубых проводящих макроэлектродов на ограниченном числе препаратов, наиболее известным из которых стал гигантский аксон кальмара [8, 15]. К. Коул на основе полученных данных с гигантского аксона кальмара сформулировал основные принципы метода фиксации потенциала, которые в последующем легли в основу многих современных электрофизиологических методик [16]. Однако для регистрации потенциалов с других возбудимых клеток требовались более тонкие электроды. Усовершенствование методов фиксации потенциала с помощью одного или двух тонких (2–5 мкм) стеклянных электродов заняло около 10 лет и блестяще показало себя в опытах на нейронах заднежаберных моллюсков [27]. В этих экспериментах кончик пипетки, содержащей хлор-серебряный электрод и раствор электролита, вводился непосредственно в клетку, а второй электрод размещался внеклеточно, в омывающей жидкости. Данная схема позволяла измерять разность потенциалов при фиксированном токе.

Э. Неер (Neher) и Б. Сакманн (Sakmann) превосходно использовали все достоинства микроэлектродов и фиксации потенциала. Кардинальное отличие их метода заключалось в использовании пипеток с относительно широким отверстием, которые не проникали внутрь клетки, а формиро-

вали с ее мембраной очень плотный (гигаомный) контакт. Данный участок мембраны называется *patch* – (от англ.; «заплата, фрагмент»), а слово *clamp* в названии метода можно интерпретировать как изоляцию (фиксацию) трансмембранного потенциала этого фрагмента или, в других конфигурациях метода, потенциала либо тока целой клетки [24]. Хотя МЛФП нужно рассматривать как усовершенствование разработок Кула, Ходжкина и Хаксли середины XX века, он позволяет регистрировать токи от единичного канала, что значительно расширяет возможности в изучении вовлечения каналов в фундаментальные процессы клетки. За это открытие Неер и Сакманн в 1991 г. получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине [28].

В знаменитой работе О. Хамилла и соавт. были показаны огромные возможности МЛФП, а также его основные конфигурации: «с прикрепленной клеткой», «целая клетка», «наружная сторона снаружи» и «внутренняя сторона снаружи» [14]. За два последних десятилетия были разработаны модификации некоторых конфигураций, такие как «фиксация потенциала с клеточным ядром» [30] и «перфорирование фиксированной мембраны» [23] (рис. 1).

Представлены все основные конфигурации МЛФП и способы их получения. Из конфигурации «с прикрепленной клеткой» получают все остальные конфигурации. При резком увеличении отрицательного давления в пипетке происходит разрыв располагающейся под ней мембраны и образуется конфигурация «целая клетка». При оттягивании кончика пипетки из этой конфигурации можно получить конфигурацию «наружная сторона снаружи», что достигается отрывом части мембраны и самопроизвольным смы-

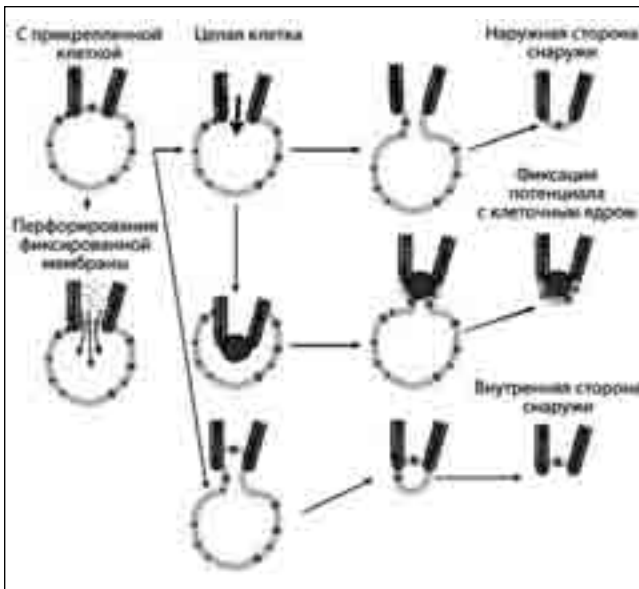


рис. 1: Конфигурации МЛФП.

канием ее концов. Из конфигурации «целая клетка» можно получить конфигурацию «фиксация потенциала с клеточным ядром» при вытягивании клеточного ядра из клетки пипеткой и обертывании вокруг него клеточной мембраны. Из конфигурации «с прикрепленной клеткой» можно получить также конфигурацию «внутренняя сторона снаружи» при простом оттягивании пипетки от клетки. При экспозиции воздухом образующаяся мембранная везикула разрывается, обнажая ее внутренний слой. Если добавить во внутриклеточный раствор пипетки такие перфорирующие мембрану вещества, как амфотерицин В, то из конфигурации «с прикрепленной клеткой» образуется конфигурация «перфорирования фиксированной мембраны».

### Принцип действия и преимущества МЛФП

Предметом электрофизиологических исследований является активность белков, обеспечивающих проводимость через биологические мембраны. К таким белкам относятся ионные каналы, рецепторы трансмиттеров и ионные насосы. Работа каналов, как потенциал-зависимых, так и лиганд-зависимых, отражается в виде изменения проводимости мембраны, что может быть измерено записью мембранных токов при постоянном потенциале мембраны или записи потенциалов при фиксированном токе. При «фиксации потенциала» ток прямо пропорционален исследуемой проводимости. Наиболее часто в экспериментах исследуются суммарные ионные токи при фиксированном потенциале мембраны целой клетки, т.е. в режиме «целая клетка». В режиме фиксации тока исследуется мембранный потенциал при помощи введения тока в клетку через записывающий электрод. Эта техника используется для изучения ответов клетки на вхождение в нее электрического тока. Уникальность режимов «наружная сторона снаружи» и «внутренняя сторона снаружи» заключается в том, что с их помощью можно напрямую измерять открытие, проницаемость, избирательность и потенциал-чувствительность единичных ионных каналов на молекулярном уровне. Все вышеуказанные возможности значительно расширяют область исследований в нейронауке. Именно поэтому МЛФП стал золотым стандартом в исследованиях клеточной электрофизиологии [7].

Неоценимый вклад МЛФП внес в развитие фармакологии, т.к. с помощью этого метода можно наблюдать эффект исследуемого вещества на живой клетке *ex vivo* в реальном времени. МЛФП позволяет изучать взаимодействие конкретного лекарственного вещества с определенным типом ионных каналов или рецепторов, а также исследовать изменение метаболизма клетки на такое воздействие. Так, с помощью МЛФП подбираются оптимальные дозы новых антиконвульсантов [29], исследуются вещества, подавляющие специфические рецепторы, ответственные за тригеминальную и другие типы боли [1]. В психофармакологии МЛФП широко используется для изучения агонистов опиоидных рецепторов, таких как DAMGO и др., влияющих на страх и его угнетение, беспокойство и пр. [3].

Широко известны работы по выделению и изучению влияния природных ядов на ионные каналы клеток животных. Так, было выявлено действие на P/Q-типы кальциевых каналов яда американских воронкообразных водяных пауков –  $\omega$ -агатаксина [2], а также точно установлено место приложения (быстрые потенциал-зависимые натриевые каналы) яда спинороговых и иглобрюхих рыб – тетродотоксина (знаменитая рыба фугу) [17]. На сегодняшний день эти вещества широко применяются в экспериментальной нейробиологии для выделения и изучения новых ионных каналов.

В нейробиологии МЛФП широко используется для изучения патомеханизмов различных заболеваний, а также выявления потенциальных терапевтических целей. Неоценимый вклад МЛФП внес в изучение патогенетических механизмов цереброваскулярных заболеваний. С помощью МЛФП исследуются факторы повреждающего действия, такие как NOX [31], Tnf- $\alpha$  R1 [22] и др. Пристальное внимание уделяется роли синаптической пластичности нейронов и их регенеративной способности в первые часы инсульта в зоне пенумбры [12].

Кроме того, МЛФП идеально работает в сочетании с другими методами и позволяет исследовать такие сложные структуры, как нейроваскулярная единица. К примеру, в конфигурации «целая клетка» можно получить суммарные токи или паттерн импульсов от отдельного превазкулярного интернейрона, оценить его размер при исследовании емкости мембраны. Также содержимое этой клетки при заборе с помощью присасывающейся пипетки может быть исследовано с помощью ПЦР на интересующие гены в пределах конкретного нейрона без контаминации генами окружающих структур. Более того, внутриклеточная окраска исследуемого интернейрона и использование маркеров к другим компонентам нейроваскулярной единицы позволяет четко визуализировать данные структуры [6].

МЛФП также можно использовать на живых срезах человеческого мозга, полученных при заборе биоптатов во время нейрохирургических операций. Такие эксперименты вносят неоценимый вклад в изучение формы, проводимости и возбудимости единичных клеток – нейронов и клеток глии, таких как астроциты, при опухолевых процессах головного мозга [4].

### Запись данных в режиме «целая клетка» *in vivo*

Вживление внутримозговых электродов у человека и животных используется достаточно давно. Здесь применяются специальные внутримозговые макроэлектроды, кото-

рые могут регистрировать потенциалы определенных зон мозга, а также производить сложную стимуляцию этих зон.

Однако научным интересом нейробиологов уже давно являются не зоны головного мозга, а группы и единичные нейроны. Именно МЛФП позволяет записывать информацию непосредственно с единичной клетки. Поэтому реалии современной нейробиологии вынуждают исследователей применять МЛФП, несмотря на все сложности работы с материалом *in vivo*. Более того, запись в режиме «целая клетка» позволяет очень точно описать морфофизиологические свойства отдельных нейронов, а также динамику постсинаптических сигналов [32] и различные виды синаптической пластичности [18]. Данные процессы регистрируются только в режиме «целая клетка» в препаратах с сохраненной сложной структурой нейронных цепей. Долгое время запись таких данных с помощью МЛФП была возможна лишь с культур клеток *in vitro* или срезов *ex vivo*, т.к. это требовало высокого уровня механической стабильности для обеспечения физического контакта между стеклом записывающего электрода и мембраной нейрона. Для преодоления этих ограничений исследования в конфигурации «целая клетка» *in vivo* стали проводиться на анестезированных [5] или бодрствующих животных, которые обездвиживались или у которых фиксировалась голова [13]. В последнее время появились техники, позволяющие проводить исследования в режиме «целая клетка» на бодрствующих животных с нефиксированной головой и свободой их передвижения [20]. Ключевым техническим принципом здесь является жесткая фиксация пипетки к черепу с внутренней стороны, что позволяет животному свободно передвигаться без потери контакта пипетки с исследуемой клеткой мозга. С помощью этой методики производят пространственный анализ внутриклеточных событий малой амплитуды, которые невозможно определить с помощью внеклеточной записи или срезах мозга [9], а также выявляют различия между работающими и молчащими клетками [10].

### Основные направления в усовершенствовании МЛФП

Несмотря на все описанные преимущества, существуют недостатки и внутренние ограничения МЛФП. Это в первую очередь низкая производительность, сложность в исполнении и сверхчувствительность к изменению условий эксперимента. Данные недостатки мешают широкому введению его в перечень рутинных исследований клеточной физиологии и фармакологии. Поэтому ведется непрерывная работа по усовершенствованию методики. Немаловажная роль уделяется автоматизации и усовершенствованию основных электрофизиологических приборов — усилителей, цифровых преобразователей и т.д. Так, современные усилители совмещают свои непосредственные функции с функциями цифрового преобразователя и осциллоскопа,

что значительно упрощает эксплуатацию данного прибора и снижает уровень шума из-за уменьшения количества соединений и проводов [25].

Перспективным направлением в усовершенствовании МЛФП являются также компьютерная визуализация и автоматизация наложения электрода на исследуемую клетку. Один из таких автоматизированных методов называется «Flip-Tip» и значительно облегчает образование гигаомного контакта [21]. Настоящим прорывом в производительности метода можно считать появление прибора на основе технологии «Flip-Tip» с одновременной фиксацией нескольких клеток. В этом приборе используется отрицательное давление или статическое электричество, которые помогают каждой клетке занять отдельную лунку в горизонтально расположенном планшете. Далее отрицательное давление помогает образовать гигаомный контакт между клеткой и кончиком пипетки [11]. Данный прибор имеет множество фиксирующих электродов и может записывать информацию сразу с нескольких клеток. На сегодняшний день существуют приборы для автоматизированной записи данных одновременно с нескольких тысяч разобленных клеток [26].

На принципиально новый уровень исполнения МЛФП может быть выведен уже в ближайшие годы. Так, в 2012 г. был разработан робот, который автоматически производит локальную фиксацию потенциала в режиме «целая клетка» *in vivo*, алгоритмически определяя клетки по временной последовательности изменения импеданса электрода [19].

### Заключение

МЛФП радикально изменил современную нейронауку. Он быстро стал методом выбора не только для изучения единичных каналов, но и для мониторинга электрической активности любых типов возбудимых клеток, как изолированных, так и в составе сложной структуры (срезы и мозг *in vivo*). МЛФП заслуженно является золотым стандартом в исследовании процессов, проходящих на мембранах раздражимых клеток, как в физиологическом состоянии, так и при патологии. Однако низкая производительность и сложность исполнения не позволяют широко применять этот метод для рутинных нейробиологических и фармакологических исследований. В связи с этим усовершенствование МЛФП происходит непрерывно. Наиболее важными направлениями являются компьютеризация с автоматизацией техники выполнения, миниатюризация приборов и повышение производительности метода.

**Благодарность.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00054). Авторы благодарят профессора Х. Хираи (Университет Гунма, Япония) за методическую помощь.



## Список литературы

1. *Abd-Elseyed A.A., Ikeda R., Jia Z., et al.* KCNQ channels in nociceptive cold-sensing trigeminal ganglion neurons as therapeutic targets for treating orofacial cold hyperalgesia. *Mol. Pain.* 2015; 11: 45.
2. *Adams M.E.* Agatoxins: ion channel specific toxins from the american funnel web spider, *Agelenopsis aperta*. *Toxicon.* 2004; 43: 509–525.
3. *Blaesse P., Goedecke L., Bazzelot M., et al.*  $\mu$ -Opioid Receptor-Mediated Inhibition of Intercalated Neurons and Effect on Synaptic Transmission to the Central Amygdala. *J. Neurosci.* 2015; 35: 7317–7325.
4. *Bordey A., Sontheimer H.* Electrophysiological properties of human astrocytic tumor cells In situ: enigma of spiking glial cells. *J. Neurophysiol.* 1998; 79: 2782–2793.
5. *Bruno R.M., Sakmann B.* Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science.* 2006; 312: 1622–1627.
6. *Cauli B., Tong X.K., Rancillac A. et al.* Cortical GABA Interneurons in Neurovascular Coupling: Relays for Subcortical Vasoactive Pathways. *J. Neurosci.* 2004; 24: 8940–8949.
7. *Chen P., Zhang W., Zhou J. et al.* Development of planar patch clamp technology and its application in the analysis of cellular electrophysiology. *Progress in Natural Science.* 2009; 19: 153–160.
8. *Cole K.S.* Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane. *Arch. Sci. Physiol.* 1949; 3: 253–258.
9. *Epsztein J., Brecht M., Lee A.K.* Intracellular determinants of hippocampal CA1 place and silent cell activity in a novel environment. *Neuron.* 2011; 70: 109–120.
10. *Epsztein J., Lee A.K., Brecht M.* Impact of spikelets on hippocampal CA1 pyramidal cell activity during spatial exploration. *Science.* 2010; 327: 474–477.
11. *Fertig N., Blick R.H., Behrends J.C.* Whole cell patch clamp recording performed on a planar glass chip. *J. Biophys.* 2002; 82: 3056–3062.
12. *Greifzu F., Pielecka-Fortuna J., Kalogeraki E., et al.* Environmental enrichment extends ocular dominance plasticity into adulthood and protects from stroke-induced impairments of plasticity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 1150–1155
13. *Haider B., Häusser M., Carandini M.* Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex. *Nature.* 2013; 493: 97–100.
14. *Hamill O.P., Marty A., Neher E., et al.* Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch.* 1981; 391: 85–100.
15. *Hodgkin A.L. and Huxley A.F.* Currents carried by sodium and potassium through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 1952; 116: 449–472.
16. *Huxley A.* Kenneth Sterward Cole 1900 – 1984. A biographical Memoir. Washington D.C. National Academies Press. 1996; 23-45.
17. *Kaneko Y., Matsumoto G., Hanyu Y.* TTX resistivity of Na<sup>+</sup> channel in newt retinal neuron. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 240: 651–656.
18. *Klausberger T., Somogyi P.* Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science.* 2008; 321: 53–57.
19. *Kodandaramaiah S.B., Franzesi G.T., Chow B.Y. et al.* Automated whole-cell patch-clamp electrophysiology of neurons in vivo. *Nature Methods.* 2012; 9: 585–587.
20. *Lee A.K., Manns I.D., Sakmann B., Brecht M.* Whole-cell recordings in freely moving rats. *Neuron.* 2006; 51: 399–407.
21. *Lepple-Wienhues A., Ferlinz K., Seeger A., Schäfer A.* Flip the tip: an automated, high quality, cost-effective patch clamp screen. *Recept. Chan.* 2003; 9: 13–17.
22. *Liguz-Leczna M., Zakrzewska R., Kossut M.* Inhibition of Tnf- $\alpha$  R1 signaling can rescue functional cortical plasticity impaired in early post-stroke period. *Neurobiol. Aging.* 2015; pii: S0197-4580(15)00326-7. [Epub ahead of print]
23. *Mollemann A.* Patch-clamping: an introductory guide to Patch-Clamp electrophysiology. 1<sup>st</sup> ed. John Wiley and Sons. 2003; 186.
24. *Sakmann B., Neher E.* Single-channel recording. 2<sup>nd</sup> ed. Springer. 1995; 700.
25. *Sigworth F.J., Affolter H., Neher E.* Design of the EPC-9, a computer-controlled patch-clamp amplifier. 2. Software. *J. Neurosci Methods.* 1995; 56: 203–215.
26. *Tao H., Santa A.D., Guia A., et al.* Automated tight seal electrophysiology for assessing the potential hERG liability of pharmaceutical compounds. *Assay Drug Dev. Tech.* 2004; 2: 497–506.
27. *Tauc L., Frank K.* The central neuron of Mollusca studied with the “voltage clamp” method. *J. Physiol.* 1962; 54: 415–416.
28. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1991. nobelprize.org. Nobel Media AB. Retrieved November 8, 2014.
29. *Torregrosa R., Yang X.F., Dustrude E.T., et al.* Chimeric derivatives of functionalized amino acids and  $\alpha$ -aminoamides: Compounds with anticonvulsant activity in seizure models and inhibitory actions on central, peripheral, and cardiac isoforms of voltage-gated sodium channels. *Bioorg. Med. Chem.* 2015; 23: 3655–3666.
30. *Windhorst U., Johansson H.* Modern techniques in neuroscience research. 1st ed. Springer. 1999; 1328.
31. *Wu L.J., Wu G., Akhavan Sharif M.R., et al.* The voltage-gated proton channel H<sub>v</sub>1 enhances brain damage from ischemic stroke. *Nat. Neurosci.* 2012; 15: 565–573.
32. *Zemanovics R., Kali S., Paulsen O. et al.* Differences in subthreshold resonance of hippocampal pyramidal cells and interneurons: the role of h-current ana passive membrane characteristics. *J. Physiol.* 2010; 588: 2109–2132.

## Modern tendencies in the development of the patch-clamp technique: new opportunities for neuropharmacology and neurobiology

A.N. Shuvaev, V.V. Salmin, N.V. Kuvacheva, E.A. Pozhilenkova, A.B. Salmina

*V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia*

**Keywords:** patch-clamp, neurobiology, neuropharmacology.

The patch-clamp (PC) technique is the gold standard in studying processes that occur on the membranes of excitable cells, both in the physiological condition and in pathology. However, gaining this unique information is associated with certain difficulties. The technique is very labor intensive and requires highly qualified specialists and expensive equipment, which greatly

limits its introduction into routine practice of a neurobiological laboratory. This article discusses the main advantages and disadvantages of PC as well as tendencies in improvement of the technique and its contribution to the development of neuropharmacology and neurobiology.

**Контактный адрес:** Шuvaев Антон Николаевич – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого. 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка 1. Тел.: +7-391-220-1395, факс: +7-391-228-08-60. E-mail: shuvaevanton@hotmail.com;

Салмин В.В. – зав. каф. мед. и биол. физики;

Кувачева Н.В. – доц. каф. биол. химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии; науч. сотр. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии;

Пожиленкова Е.А. – доц. каф. биол. химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии; исполнит. директор НИИ молекулярной медицины и патобиохимии;

Салмина А.Б. – зав. каф. биол. химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии; руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии.

# Технология редактирования генома и возможности ее применения в клеточной нейробиологии

А.С. Ветчинова, Е.В. Коновалова, Е.А. Лунев, С.Н. Иллариошкин

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва);

Балтийский федеральный университет им. И. Канта (Калининград)

*В настоящее время благодаря серии фундаментальных открытий в клеточной и молекулярной биологии появилось несколько высокотехнологичных подходов к моделированию неврологических (в первую очередь нейродегенеративных) заболеваний человека. Среди них – направленное геномное редактирование с помощью искусственных нуклеазных систем (CRISPR/CAS9 и др.), позволяющее осуществлять высокоспецифичное исправление генетических дефектов на уровне клеток. Особенно перспективным представляется применение технологии геномного редактирования на специализированных нейронах и индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК), получаемых из фибробластов больных с наследственными формами нейродегенерации в результате клеточного репрограммирования. В статье проводится краткий анализ систем программируемых нуклеаз, рассматриваются механизмы их работы, преимущества, недостатки и возможности применения в моделировании и коррекции нейродегенеративных заболеваний. Обобщен собственный опыт в клеточном моделировании PARK2-формы болезни Паркинсона на культуре дофаминергических нейронов, дифференцированных из ИПСК. Представлены предварительные данные, связанные с возможностью редактирования генома клеток в мутантных сайтах PARK2.*

**Ключевые слова:** плюрипотентные стволовые клетки, редактирование генома, CRISPR/CAS9, экспериментальная нейробиология.

Нейродегенеративные заболевания представляют собой острейшую проблему современной медицины, что обусловлено неуклонным постарением населения развитых стран мира и повышением удельного веса возраст-зависимых патологий в структуре неврологической заболеваемости [14, 38]. Однако разработка действенных мер борьбы с этими тяжелыми, неуклонно прогрессирующими заболеваниями препятствуют недостаточность знаний о молекулярных и клеточных механизмах нейродегенеративного процесса и нехватка адекватных модельных систем.

К числу наиболее изучаемых в настоящее время нейродегенеративных заболеваний относятся болезнь Паркинсона (БП), болезнь Гентингтона (БГ) и боковой амиотрофический склероз (БАС). С этиологической точки зрения заболевания БП и БАС являются чрезвычайно гетерогенными и обусловлены сложным взаимодействием между совокупностью генетических и средовых факторов риска. Активное изучение молекулярных основ развития моногенных форм БП и БАС позволило идентифицировать множество генов, вовлеченных в их патогенез [4, 5, 10, 24, 31, 33]. При БГ мутация во всех случаях заключается в экспансии тандемных полиглутамин-кодирующих (CAG)<sub>n</sub>-повторов в гене *HTT* [6]. Однако выявление мутации – это лишь самый первый шаг на длинном пути, конечной целью которого является адекватное и эффективное лечение болезни. Все мутации действуют по-разному, и механизмы реализации действия мутантного гена весьма многообразны – от утраты функции соответствующего белка (при точковых нонсенс-мутациях и инактивирующих миссенс-мутациях) до приобретения мутантным белком новых цитотоксических свойств (удлинение полиглутаминовых

треков при БГ, спинально-бульбарной амиотрофии Кеннеди и других полиглутаминовых заболеваниях). Именно это и обуславливает исключительную сложность поиска ключевых звеньев патогенеза и создания соответствующих препаратов-нейропротекторов адресного, направленного действия. Тем не менее, несмотря на значительные клинико-морфологические и генетические различия, все эти заболевания имеют ряд сходных характеристик: длительный латентный период, позднее начало, нарушение механизмов белкового процессинга, формирование агрегатов и белковых включений, трансинаптическая передача патологической конформации белка и т.д. [3, 21, 25]. Это позволяет предположить, что на определенном этапе гибель специфических популяций нейронов может опосредоваться общими молекулярными механизмами и метаболическими путями.

Сегодня в распоряжении исследователей есть несколько высокотехнологичных подходов к моделированию нейродегенерации, ставших результатом фундаментальных открытий в клеточной и молекулярной биологии последнего десятилетия. Это знаменует собой новую эру в экспериментальных нейронауках.

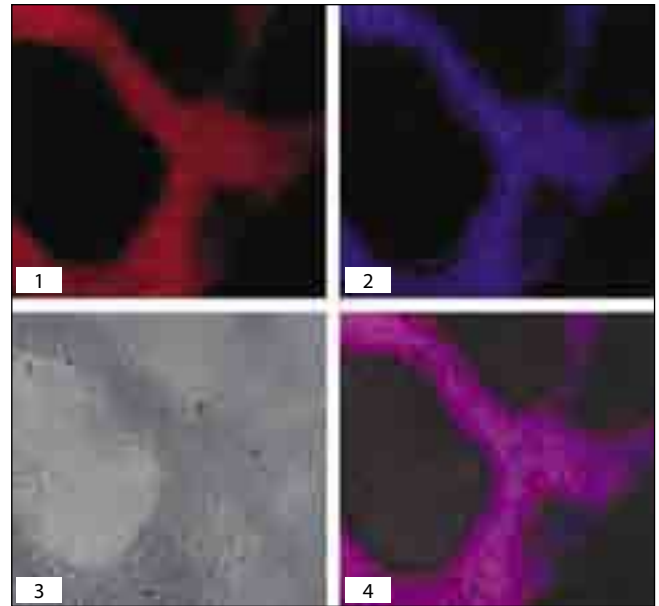
## Моделирование нейродегенеративных процессов с помощью индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), полученные из зрелых соматических клеток, представляют собой уникальную платформу для изучения генов, вовлеченных в молекулярные механизмы возникновения разнообразных патологий, моделирования заболева-

ний и изучения действия лекарственных препаратов [35]. ИПСК способны генерировать все клеточные типы, включая редкие и труднодоступные популяции клеток человека. В типичных случаях источником ИПСК служат кожные фибробласты, которые конвертируются в клеточные плюрипотентные элементы в результате активации в них четырех генов (*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc*, *Klf4*), наиболее активных на этапе раннего эмбрионального развития [1]. Таким образом, сегодня существует принципиальная возможность перепрограммировать соматические клетки, меняя их специализацию и «стирая» клеточную память, связанную с индивидуальным развитием.

Благодаря способности ИПСК дифференцироваться *in vitro* в зрелые специализированные нейроны такие клетки могут рассматриваться в качестве «идеального» источника клеток для нейротрансплантации у донора фибробластов, страдающего БП или другим нейродегенеративным заболеванием, имея в виду генетическую идентичность трансплантируемых нейронов любым клеткам данного пациента. Однако, кроме вопроса о заместительной клеточной терапии, существует проблема «персонализированных» клеточных моделей: поскольку доступ к живым нейронам человека практически невозможен, а исследование новых лекарственных препаратов *in vivo* проблематично из-за различий метаболизма ксенобиотиков в организмах человека и животного, единственным выходом представляется именно культуры ИПСК, дифференцированные в соответствующие специализированные типы нейронов [9, 22, 23].

Хорошей иллюстрацией сказанному могут служить результаты наших исследований, показавших значительный потенциал ИПСК в изучении тонких механизмов развития генетических *PARK2*- и *LRRK2*-ассоциированных форм БП. Так, установлено, что линии ИПСК от пациентов с различными мутациями и от здоровых лиц при одинаковых условиях культивирования имеют разное соотношение нейрональных предшественников и дифференцированных нейронов: если контрольная линия содержала 56% клеток-предшественников, то линия, несущая мутацию *LRRK2*-G2019S, – 35% предшественников, а культура с компаунд-гетерозиготными мутациями в гене *PARK2* (*del202-203AG* и *IVS1+1G/A*) – лишь 4% нейрональных предшественников [8]. При оценке про- и антиапоптотических факторов семейства Bcl-2 в дофаминергических нейронах, дифференцированных из ИПСК здорового донора и больного БП с мутациями в гене *PARK2*, методом Вестерн-блоттинга показано, что уровень проапоптотического белка Bак в клетках с мутацией *PARK2* практически вдвое ниже по сравнению со здоровыми клетками; напротив, экспрессия антиапоптотических факторов Bcl-XL, Bcl-W и Bcl-2 достоверно повышена в мутантных клетках по сравнению со здоровыми дофаминергическими нейронами. Полученные результаты позволяют предположить, что мутации *PARK2* сопровождаются сложной разбалансировкой систем программируемой клеточной гибели, в рамках которой ведущая роль принадлежит неапоптозным молекулярным механизмам [7]. Интересно, что в клетках с мутациями *PARK2* уровень экспрессии транспортера дофамина DAT был достоверно выше по сравнению с нормальными нейронами, однако при этом «мутантные» нейроны характеризовались функциональной недостаточностью систем дофамина транспорта (рис. 1). Эти данные помогают уточнить состояние дофаминергических систем специализированных нейронов при генетических вариантах БП, что является необходимым условием для создания новых противопаркинсонических лекарственных средств.



А



Б

рис. 1: Клеточная модель *PARK2*-ассоциированной формы БП на основе ИПСК (конфокальная микроскопия).

А – дофаминергические нейроны, полученные из ИПСК пациента с мутациями в гене *PARK2*: окраска флуоресцентным аналогом дофамина ASP+ (1), окраска ядерным маркером DAPI (2), фотография клеток в проходящем свете (3), наложение красителей на фотографию клеток в проходящем свете (4). Общее количество клеток, окрашенных ASP+, составляет около 80% (эффективность методики получения дофаминергических нейронов, содержащих моноаминоергический транспортер).

Б, В – исследование активности работы дофамина транспортера DAT в нормальной культуре дофаминергических нейронов (Б) и в культуре дофаминергических нейронов, полученных из ИПСК пациента с мутациями в гене *PARK2* (В). Накопление ASP+ (верхний ряд) приводит к флуоресценции в здоровых клетках, достоверно превышающей уровень флуоресценции в клетках носителя мутаций *PARK2*. При конкурентном добавлении дофамина (средний ряд) в здоровых клетках сигнал от ASP+ подавляется в большей степени, чем в мутантной культуре; это свидетельствует о более активном накоплении дофамина здоровыми клетками по сравнению с мутантными. Таким образом, оба теста показывают функциональную недостаточность транспортера дофамина DAT в дофаминергических нейронах, несущих мутации *PARK2*.

## Технологии направленного редактирования генома

Несомненным «прорывом» в молекулярной биологии, произошедшим в 2006–2014 гг., стало появление методов исправления генетических дефектов на уровне клеток (в т.ч. ИПСК) с помощью технологий *редактирования генома*, т.е. встраивания в клеточный клон нормальной копии гена посредством специальных методов генной инженерии [11, 19, 28].

Технологии направленного редактирования генома на основе программируемых нуклеаз предоставляет возможность эффективной и прицельной генетической модификации интересующих сайтов-мишеней высокоспецифическими нуклеазами. Для редактирования генома применяют искусственные нуклеазные системы «цинк-пальцевых» доменов, TALEN и CRISPR/Cas. Индуцируемые нуклеазами двухнитевые разрывы могут быть подвергнуты репарации по одному из двух возможных механизмов. Негомологичное воссоединение концов способствует эффективному внесению мутаций типа инсерций или делеций различной длины, которые могут приводить к смещению рамки считывания и быть причиной нарушения связывания транскрипционных факторов с промоторами генов. Гомологическая репарация может быть использована для внесения направленных точечных мутаций или введения желаемой последовательности через рекомбинацию локуса мишени с привнесенной донорной эндогенной ДНК-матрицей. В качестве донора используют вектор или просто одноцепочечную ДНК.

### *Редактирование генома с помощью искусственной нуклеазной системы, содержащей домены типа «цинковых пальцев»*

Первым инструментом для коррекции генома стала эндонуклеаза, содержащая в своем составе последовательности типа «цинковых пальцев» (ZNF); она представляет собой белковый комплекс, состоящий из разрезающего ДНК фермента Fok I и ДНК-связывающего домена [11, 36]. Для связывания субъединицы ZNF с ДНК длиной 9–18 пар оснований (п.о.) необходимо от 3 до 6 доменов «цинковых пальцев». Когда две нуклеазы соединяются со своими мишенями, находящимися на расстоянии 5–7 п.о. друг от друга в правильной ориентации, нуклеазный домен димеризуется и вносит двухнитевый разрыв в ДНК в интересующем локусе, после чего осуществляется гомологическая репарация или негомологическое соединение концов ДНК [27, 30]. Такой подход может быть применен для коррекции генов или добавления новых генов в интересующем локусе [36]. Применение ZNF-систем редактирования генома на ИПСК позволяет создавать уникальные исследовательские платформы для решения большого числа фундаментальных вопросов нейробиологии [2]. Использование данного подхода позволило внести мутации A53T (G209A) и E46K (G188A) в ген *SNCA* эмбриональных культур человеческих клеток для воссоздания модели БП (ген *SNCA* кодирует альфа-синуклеин – основной компонент тельца Леви). Одновременно в этой работе была проведена успешная коррекция мутации A53T с помощью ZNF и двухцепочечного донорного вектора в ИПСК, полученных из фибробластов пациента с БП [34]. Двухстадийная ZNF-коррекция мутации A4V гене *SOD1* в культуре ИПСК с последующей дифференцировкой в мотонейроны позволила провести сравнительный анализ экспрессии белка SOD1 и морфологию мотонейронов «вылеченных» культур по сравнению с мотонейронами, полученными из фибробластов пациентов с БАС [26].

Система ZNF позволяет также регулировать экспрессию генов путем создания химерных конструкций, содержащих ДНК-связывающий домен и синтетический домен VP64 (158–2) или KRAB (161–2). Так, химерный белок ZNF-KRAB использовался для подавления экспрессии «хореического» гена *HTT* в мозге мышей линии R6/2, служащих моделью БГ. Доставка с помощью аденовирусных векторов химерного белка приводила к значительному снижению уровня экспрессии мутантной РНК и белка гентингина [20]. Таким образом, технология с применением ZNF стала первым программируемым инструментом для коррекции генома, однако она подразумевает использование белков, которые сложно модифицировать для применения с новыми генами-мишенями. Поскольку отсутствует коллекция из 64 «цинковых пальцев», покрывающая все возможные комбинации нуклеотидных триплетов, применение ZNF ограничено. Кроме того, при использовании данной технологии возможно также появление потенциально опасных непреднамеренных разрезов ДНК.

### *Редактирование генома с помощью TALEN-системы*

В последние годы накопленные данные в фундаментальных исследованиях генома прокариот привели к созданию новых инструментов редактирования – систем TALEN (*Transcription Activator Like Effector Nucleases*) и CRISPR/CAS9 (см. далее). Эти системы отличаются относительной простотой конструирования и высокой эффективностью работы в клетках человека, животных и растений [16, 19, 32]. В системе TALEN роль ДНК-распознающих структур играют белковые домены, каждый из которых «узнает» только один нуклеотид. Четыре tandemных повтора Asn-Asn, Asn-Ile, His-Asp и Asn-Gly достаточны для узнавания гуанина, аденина, цитозина и тимина и, следовательно, для создания TALEN с уникальными свойствами. Поскольку механизм «узнавания» ДНК в данном случае однозначен и прост, получение конструкции, специфично распознающей нужную исследователю нуклеотидную последовательность, – относительно простая задача. Соединяя такую направляющую конструкцию с ферментом, расщепляющим ДНК (как правило, для этих целей используется Fok I – каталитический домен фермента рестрикции), можно получить систему с высокой специфичностью действия.

В терапевтических целях TALEN-систему возможно применить и для регуляции экспрессии генов, ассоциированных с нейродегенеративными заболеваниями. Для проверки этого подхода химерный белок TALEN-VP64 применяли для повышения уровня экспрессии гена *FXN*, кодирующего железотранспортирующий белок фратаксин – «виновник» развития атаксии Фридрейха. Показано, что с помощью TALEN-VP64 можно повысить экспрессию гена *FXN* в фибробластах человека, несмотря на увеличенное число тринуклеотидных повторов GAA в мутантных клетках [15].

Несмотря на относительную легкость и дешевизну синтеза по сравнению с комплексами «цинковых пальцев», белки TALEN достаточно сложно доставлять внутрь клеток. Проблемой также является возможность непреднамеренных разрезов ДНК.

### *Бактериальная система CRISPR/Cas как основа для создания новых инструментов редактирования генома*

В 2012–2013 гг. был разработан «революционный» метод генетической инженерии CRISPR/Cas, открывший принципиально новые возможности для манипуляций на уровне генома высших организмов [17]. Этот метод чрезвычайно

прост, обеспечивает точное воздействие на заданные участки ДНК и может быть использован практически в любой современной молекулярно-биологической лаборатории. В отличие от химерных нуклеаз в CRISPR/Cas структурами, узнающими ДНК, являются не белки, а короткие РНК. Идея создания такой системы родилась при изучении механизмов, которые бактерии используют для защиты от своих патогенных вирусов (бактериофагов). Конкретно речь идет о своеобразной «иммунной» реакции бактерий на проникновение определенного бактериофага, которая выражается в избирательном расщеплении его геномной ДНК. Работа всего механизма обеспечивается специальными участками бактериального генома – CRISPR-локусами (от англ.: *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). Как видно по названию, локусы состоят из стандартных повторных некодирующих последовательностей бактериальной ДНК, а разделяют эти повторы спейсеры – короткие фрагменты чужеродной (вирусной или плазмидной) ДНК. Состав и порядок расположения спейсеров указывает на число «атак» различных вирусов, успешно пережитых самой бактериальной клеткой и/или ее родительскими поколениями [12, 29]. Благодаря своей высокой специфичности и способности к быстрой «настройке» система CRISPR/Cas работает очень эффективно, обеспечивая хозяйской клетке надежную защиту от патогенов [37].

К настоящему времени детально описаны несколько типов защитных систем CRISPR, функционирующих в клетках различных бактерий. Наиболее популярной оказалась система CRISPR/Cas типа II-A, обнаруженная у бактерии *Streptococcus pyogenes*, которая состоит из трех генов, кодирующих crRNA, транскрибирующую РНК (tracrRNA) и белок Cas9 [13]. На основе этой системы и были созданы универсальные генетические конструкции, кодирующие элементы искусственного «редактора генома» CRISPR/Cas [18]. Удобство использования стрептококковой системы CRISPR/Cas9 в эукариотических организмах заключается в том, что для нее нужны всего два компонента: РНК-гид (guideRNA, gRNA), комплементарная целевому гену, и фермент Cas9, который расщепляет этот ген. Гены этих двух компонентов помещаются в плазмиду и доставляются в клетку, где должны экспрессироваться. Более того, методика позволяет доставить в клетку сразу несколько РНК-гидов, комплементарных разным генам-мишеням, и фермент Cas9 разрежет их все.

Благодаря своей простоте, эффективности и широким возможностям система CRISPR/Cas за короткое время уже нашла применение в самых различных областях фундаментальной и прикладной биологии, биотехнологии и медицины. Уникальная способность комплекса системы CRISPR/Cas избирательно связываться с определенными участками ДНК позволила разработать на ее основе регуляторы активности генов. Для этого в систему включают каталитически неактивный мутантный белок Cas9, к которому могут быть присоединены белки, активирующие или подавляющие функции промоторов, управляющих работой генов. При связывании такого комплекса с целевой ДНК может подавляться либо стимулироваться работа целевого гена [2].

Внося направленные модификации в геном стволовых клеток человека, можно получить линии клеток-моделей наследственных заболеваний, вызванных нарушениями функций определенных генов. Такие клеточные линии являются, по сути, неограниченным источником «пациентов

в пробирке», на которых можно проводить тестирование десятков тысяч различных химических соединений – потенциальных лекарств.

Технологически стратегия геномной инженерии с помощью системы CRISPR/Cas включает в себя следующие этапы: выбор целевой последовательности и определение вида необходимого воздействия; создание нуклеазной конструкции, направленной на выбранную мишень; доставка ее в клеточное ядро; анализ участка генома, подвергнутого воздействию. С помощью системы CRISPR/Cas можно осуществлять все виды модификаций генома: вносить точечные мутации, встраивать в определенные места новые гены либо, наоборот, удалять крупные участки нуклеотидных последовательностей, исправлять или заменять отдельные генетические элементы и фрагменты генов.

В нашей работе, проводимой на базе лаборатории геномной инженерии МФТИ (заведующий – к.б.н. П.Ю. Волчков), мы подобрали РНК-гиды для внесения на культуре стволовых клеток мутаций del202-203AG и IVS1+1G/A в ген *PARK2*, ассоциированный с аутосомно-рецессивным ювенильным паркинсонизмом [4, 31], а также для коррекции этих мутаций в ИПКС, полученных из фибробластов пациента с *PARK2*-формой паркинсонизма. Важнейшим моментом при работе с системой CRISPR/Cas является тщательный подбор сайтов для специфического внесения двухнитевого разрыва. Для большей специфичности CRISPR/Cas системы использовали следующие биоинформационные ресурсы и программы:

[www.genome-engineering.org](http://www.genome-engineering.org),  
[www.dna20.com/ecommerce/cas9/input](http://www.dna20.com/ecommerce/cas9/input)  
и [www.e-crisp.org](http://www.e-crisp.org).

Подобранные с помощью программы РНК-гиды имеют целью клонирование в вектор gRNA с помощью разрезания продуктов амплификации по специфическим сайтам (праймеры, использованные нами в настоящей работе, доступны по запросу). Схема плазмиды pgRNA указана на рис. 2. Полученные варианты векторных конструкций РНК-гидов тестируются на эффективность внесения двухцепочечных разрывов ДНК на клеточной линии HeLa. Для этого в клетки совместно трансфецируются различные варианты плазмид pgRNA и плазмиды pCas, содержащая ген нуклеазы Cas9 и зеленый флуоресцентный белок GFP (рис. 3). Белок GFP, находящийся в одной рамке считывания с ну-

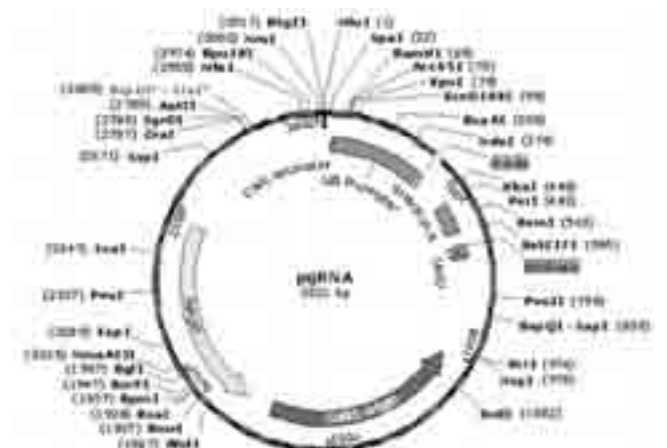


рис. 2: Схема вектора-основы pgRNA для клонирования двухцепочечных ДНК-спейсоров.

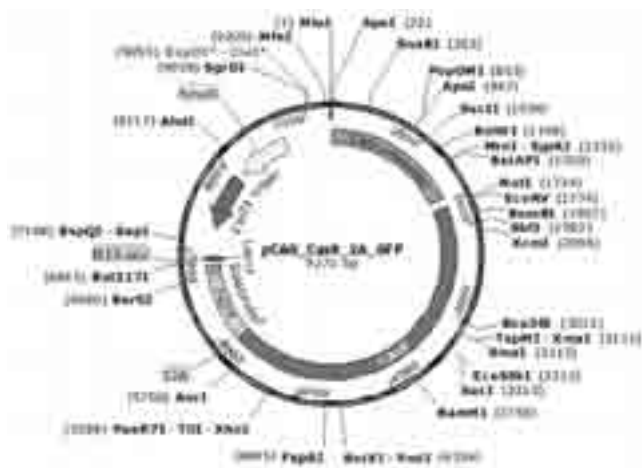


рис. 3: Схема плазмиды pCas9, используемой в экспериментах по редактированию гена *PARK2*: плаزمида содержит ген нуклеазы Cas9 и зеленый флуоресцентный белок GFP, соединенные через линкерную последовательность T2A.

клеазой, позволяет оценить трансфекцию путем подсчета GFP-позитивных клеток методом проточной цитометрии. Плазмиды pgRNA и pCas наработаны нами в препаративных количествах в клетках *E. coli*: их концентрации, оцененные на приборе NanoDrop 2000, составили 4 мкг/мкл и 2 мкг/мкл соответственно (рис. 4).

Таким образом, нами осуществлены необходимые предварительные этапы для реализации на практике геномного редактирования в целевых сайтах *PARK2*. Для доставки генетических конструкций в клетки будет использован метод липофильной трансфекции с Lipofectamine® 3000 (Invitrogen). Эффективность синтеза нуклеазы Cas9 оцени-

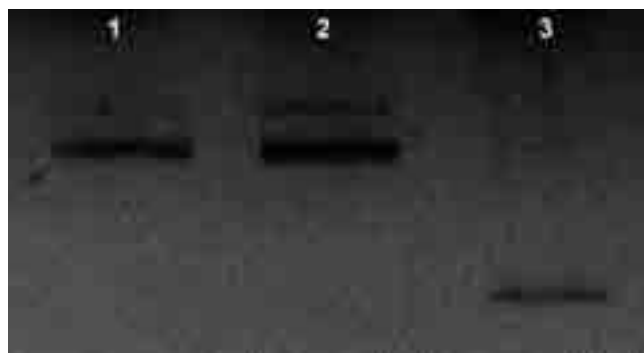


рис. 4: Электрофореграмма выделенных из культур *E. coli* плазмид pCas9 (дорожки 1 и 2) и pgRNA (дорожка 3).

вается посредством конфокальной микроскопии по экспрессии GFP, кодируемого генетической конструкцией в одной рамке считывания с геном нуклеазы Cas9 через линкерную последовательность T2A, а эффективность трансфекции – с помощью проточной цитометрии. Далее с помощью ПЦР амплифицируется целевой locus, а продукты ПЦР клонируются в pGEM-вектор. Из-за инсерций или делеций происходит нарушение/восстановление рамки считывания маркерного гена *LacZ*, и в результате подсчета синих и белых колоний после трансформации *E. coli* определяется эффективность работы системы CRISPR/Cas9.

Отработка технологий клеточного репрограммирования и геномного редактирования в моделях нейродегенеративных заболеваний *in vitro* закладывает основу для их геномной терапии в эксперименте и клинике.

*Работа поддержана грантом РФФ № 14-15-01047.*

## Список литературы

1. Богомазова А.Н., Васина Е.М., Киселев С.Л. и др. Генетическое репрограммирование клеток: новая технология для фундаментальных исследований и практического использования. *Генетика*. 2015; 4: 466–478.
2. Васильева Е.А., Мелино Д., Барлев Н.А. Применение системы направленного геномного редактирования CRISPR/Cas к плюрипотентным стволовым клеткам. *Цитология*. 2015; 1: 19–30.
3. Завалишин И.А., Яхно Н.Н., Гаврилова С.И. (ред.) *Нейродегенеративные болезни и старение*. М.: А.А.А., 2001.
4. Загоровская Т.Б., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А. и др. Клинико-генетический анализ ювенильного паркинсонизма в России. *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2004; 8: 66–72.
5. Иллариошкин С.Н., Загоровская И.А., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. Генетические аспекты болезни Паркинсона. *Неврол. журн.* 2002; 5: 47–51.
6. Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. Новый механизм мутации у человека: экспансия тринуклеотидных повторов. *Генетика*. 1995; 31: 1478–1489.
7. Коновалова Е.В., Лопачева О.М., Гривенников И.А. и др. Экспрессия про- и антиапоптотических факторов в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках здорового донора и пациента с болезнью Паркинсона, являющегося носителем мутаций в гене *PARK2*. *Acta Naturae*. 2015; 7 (4).
8. Коновалова Е.В., Новосадова Е.В., Гривенников И.А., Иллариош-

- кин С.Н. Фенотипические различия культур нейронов, получаемых путем репрограммирования фибробластов пациентов с мутациями в генах паркинсонизма *LRRK2* и *PARK2*. *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 2015; 6: 749–753.
9. Лебедева О.С., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н. и др. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: новые возможности в нейробиологии и нейротрансплантологии. *Анн. клин. и эксперим. неврол.* 2011; 4: 37–45.
10. Лысогорская Е.В., Абрамычева Н.Ю., Захарова М.Н., Иллариошкин С.Н. Частота мутаций в гене SOD1 у российских пациентов с боковым амиотрофическим склерозом. *Мед. генетика* 2013; 4: 32–37.
11. Медведев С.П., Шевченко А.И., Сухих Г.Т., Закиян С.М. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Новосибирск: Изд. Сибирского отделения РАН, 2014.
12. Немудрый А.А., Валетдинова К.Р., Медведев С.П., Закиян С.М. Системы редактирования генома TALEN и CRISPR/Cas – инструменты открытий. *Acta Naturae*. 2014; 23: 20–42.
13. Barrangou R., Fremaux C., Deveau H. et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007; 315: 1709–1712.
14. Brookmeyer R., Johnson E., Ziegler-Graham K., Arrighi M.H. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2007; 3: 186–191.
15. Chapdelaine P., Coulombe Z., Chikh A. et al. A potential new therapeutic approach for Friedreich ataxia: induction of frataxin expression



with TALE proteins. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2013; 2 (9): e119.

16. *Chen K., Gao C.J.* TALENs: customizable molecular DNA scissors for genome engineering of plants. *Genet. Genomics*. 2013; 40: 271–279.

17. *Cong L., Ran F.A., Cox D. et al.* Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*. 2013; 339 (6121): 819–823.

18. *Fonfara I., Le Rhun A., Chylinski K. et al.* Phylogeny of Cas9 determines functional exchangeability of dual-RNA and Cas9 among orthologous type II CRISPR-Cas systems. *Nucl. Acids Res.* 2014; 42: 2577–2590.

19. *Gaj T., Gersbach C., Barbas C.* ZNF, TALEN and CRISPR/CAS-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 2013; 31: 397–405.

20. *Garriga-Canut M., Agustin-Pavon C., Herrmann F. et al.* Synthetic zinc finger repressors reduce mutant huntingtin expression in the brain of R6/2 mice. *PNAS* 2012; 109: 3136–3145.

21. *Guo J.L., Lee V.M.Y.* Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nat. Med.* 2014; 20: 130–138.

22. *Hargus G., Ehrlich M., Hallmann A.-L., Kuhlmann T.* Human stem cell models of neurodegeneration: a novel approach to study mechanisms of disease development. *Acta Neuropathol.* 2014; 127: 151–173.

23. *Hunsberger J.G., Efthymiou A.G., Malik N., Behl M.* Induced pluripotent stem cell models to enable in vitro models for screening in the CNS. *Stem Cells Devel.* 2015; 24: 1852–1864.

24. *Ingre C., Roos P.M., Piehl F. et al.* Risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Epidemiol.* 2015; 7: 181–193.

25. *Jenner P., Morris H.R., Robbins T.W. et al.* Parkinson's disease – the debate on the clinical phenomenology, aetiology, pathology and pathogenesis. *J. Parkinsons Dis.* 2013; 3: 1–11.

26. *Kiskinis E., Sandoe J., Williams L. et al.* Pathways disrupted in human ALS motor neurons identified through genetic correction of mutant SOD1. *Cell Stem Cell.* 2014; 14: 781–795.

27. *Lieber M.R.* The mechanism of double-strand DNA break repair by

the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu. Rev. Biochem.* 2010; 79: 181–211.

28. *Mali P., Yang L., Esvelt K.M. et al.* RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science*. 2012; 339: 823–826.

29. *Mojica F.J., Diez-Villaseñor C., Garcia-Martínez J., Soria E.* Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J. Mol. Evol.* 2005; 60: 174–182.

30. *Moynahan M.E., Jasin M.* Mitotic homologous recombination maintains genomic stability and suppresses tumorigenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11: 196–207.

31. *Periquet M., Lücking C.B., Vaughan J.R. et al.* Origin of the mutations in the parkin gene in Europe: exon rearrangements are independent recurrent events, whereas point mutations may result from founder effects. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 68: 617–626.

32. *Schmid-Burgk J.L., Schmidt T., Kaiser V. et al.* A ligation-independent cloning technique for high-throughput assembly of transcription activator-like effector genes. *Nat. Biotechnol.* 2013; 31: 76–81.

33. *Singleton A.B., Farrer M.J., Bonifati V.* The genetics of Parkinson's disease: progress and therapeutic implications. *Mov. Disord.* 2013; 28: 14–23.

34. *Soldner F., Laganieri J., Cheng A. et al.* Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early-onset Parkinson point mutations. *Cell*. 2011; 146: 318–331.

35. *Takahashi K., Yamanaka S.* Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126: 663–676.

36. *Urnov F.D., Rebar E.J., Holmes M.C. et al.* Genome editing with engineered zinc finger nucleases. *Nat. Rev. Genet.* 2010; 11: 636–646.

37. *Wiedenheft B., Sternberg S.H., Doudna J.A.* RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. *Nature*. 2012; 482: 331–338.

38. *Wirdefeldt K., Adami H.O., Cole P., Trichopoulos D., Mandel J.* Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur. J. Epidemiol.* 2011; 26 (Suppl. 1): S1–58.

## A genome editing technology and capabilities of its application in cellular neurobiology

A.S. Vetchinova, E.V. Konovalova, E.A. Lunev, S.N. Illarioshkin

*Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia*

**Keywords:** pluripotent stem cells, genome editing, CRISPR/CAS9, experimental neurobiology.

A number of fundamental breakthroughs in cellular and molecular biology provided the basis for several modern sophisticated approaches to modeling of human neurological (primarily neurodegenerative) diseases. In particular, targeted genome editing by artificial nuclease systems (CRISPR/CAS9, etc.) enables a highly specific correction of genetic defects at the cellular level. An especially promising area is application of the genome editing technology in specialized neurons and induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from fibroblasts of patients with inherited forms of neurodegeneration by cell reprogramming. The article

provides a brief analysis of programmable nuclease systems and describes mechanisms of their activity as well as advantages, disadvantages, and capabilities of their applications in modeling and correction of neurodegenerative diseases. The authors generalize their own experience in cellular modeling of the *PARK2* type of Parkinson's disease on the culture of dopaminergic neurons differentiated from iPSCs. The article provides preliminary data related to the capability of editing the cellular genome at mutant sites *PARK2*.

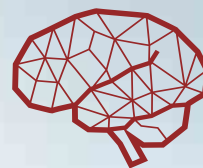
**Контактный адрес:** Иллариошкин Сергей Николаевич – докт. мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, рук. отдела исследований мозга ФГБНУ «Научный центр неврологии». Москва 125367, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: (495) 490-2043 (раб.), факс: (495) 490-2002; e-mail: snillario@gmail.com;

Ветчинова А.С. – науч. сотр. ДНК-лаборатории V неврол. отд. ФГБНУ НЦН;

Коновалова Е.В. – науч. сотр. лаб. эксперим. нейрцитологии отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН;

Лунев Е.А. – науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических технологий Химико-биологического института БФУ им. И. Канта.

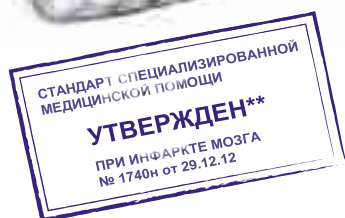
# МЕКСИДОЛ®






Подавляющее  
Превосходство\*



## Эталон антиоксидантной нейропротекции



-  Оригинальный этилметилгидроксипиридина сукцинат, в терапевтической практике с 1996 года.
-  Пионер базовой антиоксидантной и энергокорректирующей терапии.
-  Патогенетический препарат в терапии цереброваскулярных болезней.

**ООО «ВЕКТОРФАРМ»**  
эсклюзивный дистрибьютор лекарственных  
препаратов ООО «НПК «ФАРМАСОФТ»



**ФАРМАСОФТ**

\* Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Нарциссов Я.Р. с соавт. "Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование эффективности и безопасности мексидола в комплексной терапии ишемического инсульта в остром периоде". *Инсульт*, 18, 2006, с.47-54  
Шулькин А.В. Влияние мексидола на развитие феномена эксайтотоксичности нейронов *in vitro*. *Инсульт*, 2, 2012, с.35-39  
по данным IMS Health, самый продаваемый этилметилгидроксипиридина сукцинат

# РОССИЙСКАЯ НЕДЕЛЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

7–11 декабря 2015



 **ЭКСПОЦЕНТР**  
МОСКВА

123100, Россия, Москва,  
Краснопресненская наб., 14  
Единый справочно-  
информационный центр:  
8 (499) 795-37-99  
E-mail: [centr@expocentr.ru](mailto:centr@expocentr.ru)  
[www.expocentr.ru](http://www.expocentr.ru),  
[expocentr.pf](http://expocentr.pf)



## ЗА ЗДОРОВУЮ ЖИЗНЬ

Международный форум по профилактике неинфекционных заболеваний и формированию здорового образа жизни



## ЗДРАВООХРАНЕНИЕ

25-я международная выставка «Здравоохранение, медицинская техника и лекарственные препараты»



## ЗДОРОВЫЙ ОБРАЗ ЖИЗНИ

9-я международная выставка «Средства реабилитации и профилактики, эстетическая медицина, оздоровительные технологии и товары для здорового образа жизни»

### Организаторы:

- Государственная Дума ФС РФ
- Министерство здравоохранения РФ
- ЦВК «Экспоцентр»

### При поддержке:

- Совета Федерации ФС РФ
- Министерства промышленности и торговли РФ
- Правительства Москвы
- Российской академии наук
- Торгово-промышленной палаты РФ
- Всемирной организации здравоохранения в РФ

реклама 12+

# 5-6

ФЕВРАЛЯ  
2016г.

## Вейновские Чтения

12-я ЕЖЕГОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
ПОСВЯЩЕННАЯ ПАМЯТИ  
АКАДЕМИКА А.М.ВЕЙНА



Москва, Кутузовский проспект,  
дом 2/1, строение 6

Конгресс-парк гостиницы  
«Редиссон Ройал, Москва»

[veinconference.paininfo.ru](http://veinconference.paininfo.ru)

# БАКЛОСАН®

БАКЛОФЕН – СЕЛЕКТИВНЫЙ АГОНИСТ  $\beta$ -РЕЦЕПТОРОВ ГАМК

ДЛЯ  
КУПИРОВАНИЯ  
БОЛЕЗНЕННОГО  
МЫШЕЧНОГО  
СПАЗМА

● ПРЕПАРАТ ПЕРВОГО ВЫБОРА  
ПРИ БОЛЕЗНЕННЫХ МЫШЕЧНЫХ СПАЗМАХ<sup>1</sup>

● ПОЗВОЛЯЕТ СОКРАТИТЬ СРОКИ ЛЕЧЕНИЯ  
ПАЦИЕНТОВ С БОЛЬЮ В СПИНЕ<sup>2</sup>

● ТАБЛЕТКИ ПО 10 МГ И 25 МГ №50<sup>3</sup>

● ОПТИМАЛЬНЫЕ СУТОЧНЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ДОЗЫ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ  
БОЛИ И СПАЗМА – ОТ 30 МГ ДО 75 МГ

НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

РЕГ. УД. П №014785/01-061109

1. Гусев Е.И., Бойко А.Н., Столяров И.Д. Рассеянный склероз. – М. 2009. 25 с.

2. Карнеев А.Н., Соловьева Э.Ю., Федин А.И. Применение Баклосана в комплексном лечении боли в спине. Журнал неврологии и психиатрии, 5, 2007, 65-66 с.

3. Инструкция по медицинскому применению препарата Баклосан

Продолжается подписка  
на 2016 г. через издательство  
ЗАО «РКИ Соверо пресс»

12 месяцев (четыре журнала в год) **1900 руб.**  
6 месяцев (два журнала в полугодие) **950 руб.**  
3 месяца (один журнал) **475 руб.**

www.annaly-nevrologii.ru

# Анналы

клинической и экспериментальной

# НЕВРОЛОГИИ

ОБЩЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Подписной индекс  
в каталоге «Пресса России»

**29662**  
на полугодие

**11878**  
на год

## БЛАНК-ЗАКАЗ на 2016 год

Название организации (или ФИО) \_\_\_\_\_

Адрес (с почтовым индексом) \_\_\_\_\_

Телефон: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

Номера журналов: (1, 2, 3, 4)     нужное отметить

Отправьте заполненный бланк-заказ и квитанцию, оплаченную в любом отделении Сбербанка РФ (или их копию) по адресу: **125130, Москва, 4-й Новоподмосковный пер., д. 4, ЗАО «РКИ Соверо пресс», тел.: (499) 159-98-47** или по E-mail: **soveropress@bk.ru**

Извещение

**ЗАО «РКИ Соверо пресс»**

Форма № ПД-4  
**КПП: 770401001**

(наименование получателя платежа)

**7 7 0 4 1 9 3 7 2 1**

(ИНН получателя платежа)

**4 0 7 0 2 8 1 0 5 0 0 1 7 0 0 0 0 4 0 7**

(номер счета получателя платежа)

в **ОАО «Банк Москвы»** БИК **0 4 4 5 2 5 2 1 9**  
(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа **3 0 1 0 1 8 1 0 5 0 0 0 0 0 0 0 2 1 9**

**Журнал «Анналы клинической и экспериментальной неврологии»**

(наименование платежа)

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика \_\_\_\_\_

Адрес плательщика \_\_\_\_\_

Сумма платежа \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп. Сумма платы за услуги \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп.

Итого \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп. « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика \_\_\_\_\_

Кассир

Квитанция

**ЗАО «РКИ Соверо пресс»**

КПП: 770401001

(наименование получателя платежа)

**7 7 0 4 1 9 3 7 2 1**

(ИНН получателя платежа)

**4 0 7 0 2 8 1 0 5 0 0 1 7 0 0 0 0 4 0 7**

(номер счета получателя платежа)

в **ОАО «Банк Москвы»** БИК **0 4 4 5 2 5 2 1 9**  
(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа **3 0 1 0 1 8 1 0 5 0 0 0 0 0 0 0 2 1 9**

**Журнал «Анналы клинической и экспериментальной неврологии»**

(наименование платежа)

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика \_\_\_\_\_

Адрес плательщика \_\_\_\_\_

Сумма платежа \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп. Сумма платы за услуги \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп.

Итого \_\_\_\_\_ руб. \_\_\_\_\_ коп. « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика \_\_\_\_\_

Кассир



# Акtilизе®

алтеплаза

«... для пациентов, прошедших курс лечения препаратом Акtilизе®, ~ на 30% повышается вероятность полного восстановления физической активности или сохраняются лишь минимальные нарушения в течение трех месяцев после перенесенного инсульта...»<sup>1</sup>

Препарат Акtilизе® рекомендуется в качестве терапии первой линии при остром ишемическом инсульте в период до 4,5 часов после начала проявления симптомов<sup>2</sup>

Изображение пациентов и личные данные не являются реальными.

## Он перенес инсульт... но вовремя получил Акtilизе®



Применение препарата Акtilизе® у больных с острым ишемическим инсультом одобрено Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. Приказ от 21.03.05 №592-Пр/05.

RU/ACT\_5-151000 от 18.02.2015

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Акtilизе® (ACTILYZE®)

Регистрационный номер: П N014214/01. МНН: алтеплаза. Лекарственная форма: лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 50 мг. Состав: 1 флакон содержит 50 мг алтеплазы.

**Показания:** тромболитическая терапия острого инфаркта миокарда (ОИМ); тромболитическая терапия массивной тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА), сопровождающейся нестабильной гемодинамикой; тромболитическая терапия ишемического инсульта (ИИ) в остром периоде. **Противопоказания:** препарат АКТИЛИЗЕ не должен применяться у пациентов с известной гиперчувствительностью к активному веществу (алтеплазе), гентамицину (остаточные следы от процесса производства) или к любому вспомогательному веществу. Препарат АКТИЛИЗЕ не следует применять в тех случаях, когда имеется повышенный риск развития кровотечения: обширное кровотечение в настоящее время или в течение предыдущих 6 месяцев, геморрагический диатез; одновременное эффективное лечение с пероральными антикоагулянтами, например варфаринном (МНО>1,3); заболевания центральной нервной системы в анамнезе (в том числе, новообразования, аневризма, хирургическое вмешательство на головном или спинном мозге); внутрисеречное (в том числе субаракноидальное) кровоизлияние в настоящее время или в анамнезе; подозрение на наличие геморрагического инсульта; тяжелая неконтролируемая АГ; обширное хирургическое вмешательство или обширная травма в течение предыдущих 10 дней (включая любую травму, полученную на фоне развивающегося инфаркта миокарда), недавняя черепно-мозговая травма, длительная или травматичная сердечно-легочная реанимация (>2 мин), роды в течение 10 предшествующих дней; недавно произведенная пункция некомпонируемого кровеносного сосуда (например, подключичной или яремной вены); тяжелые заболевания печени, в том числе печеночная недостаточность, цирроз, портальная гипертензия (в том числе варикозное расширение вен пищевода) и активный гепатит; бактериальный эндокардит, перикардит, острый панкреатит; подтвержденная язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в течение последних трех месяцев; артериальные аневризмы, дефекты развития артерий/вен; новообразование с повышенным риском развития кровотечения; повышенная чувствительность к компонентам препарата.

**Способ применения и дозы:** АКТИЛИЗЕ следует применять как можно быстрее после возникновения симптомов; ИИ (острый период); рекомендуемая доза 0,9 мг/кг (максимально 90 мг) вводится инфузионно в течение 60 минут после первоначального в/в струйного введения дозы препарата, составляющей 10% от величины суммарной дозы. Терапия должна быть начата как можно быстрее (в течение 4,5 часов) после появления симптомов. **Побочные эффекты:** самой частой нежелательной реакцией является кровотечение, приводящее к снижению гематокрита и/или гемоглобина. Перечень всех побочных эффектов представлен в инструкции по медицинскому применению. **Особые указания:** в случае возникновения тяжелого кровотечения, в особенности церебрального, фибринолитическая терапия, а также применение гепарина должны быть немедленно прекращены. При лечении острого ИИ следует дополнительно иметь в виду: необходимо мониторировать артериальное давление (АД) во время лечения и в течение 24 часов после его окончания. **Условия хранения:** в защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С. **Срок годности:** 3 года. **Полная информация представлена в инструкции по медицинскому применению.**

1. Акtilизе®: монография о препарате. Лечение острого ишемического инсульта. М.: 2005.  
2. Инструкция по применению препарата Акtilизе®.

ООО «Берингер Ингельхайм»:  
125171, Москва, Ленинградское шоссе, 16А, стр. 3  
Тел.: +7 (495) 544 50 44, факс: +7 (495) 544 56 20  
www.boehringer-ingelheim.ru

 **Boehringer  
Ingelheim**



# АКТОВЕГИН®

энергия жизни



## Нейрометаболический препарат патогенетического действия для комплексной терапии неврологических, метаболических и хирургических заболеваний, а также их осложнений

- **Метаболические и сосудистые заболевания головного мозга (инсульт, черепно-мозговая травма, различные формы недостаточности мозгового кровообращения, деменция)**
- **Диабетическая полинейропатия**
- **Периферические сосудистые, метаболические нарушения и их последствия**
- **Заживление ран (трофические нарушения кожи, язвы, пролежни)**

### Сокращенная информация по применению:

**Регистрационные номера:** ЛС-001323 от 26.02.2006; П N014635/03 от 19.12.2007; П N014635/02 от 14.03.2008; П N014635/01 от 26.02.2008. **Торговое название препарата:** Актовегин®. **Активное вещество:** депротеинизированный гемодериват крови теллят. **Лекарственная форма:** раствор для инфузий (в растворе натрия хлорида 0,9%; в растворе декстрозы), раствор для инъекций, таблетки покрытые оболочкой.

**Показания к применению:** Метаболические и сосудистые нарушения головного мозга (в т.ч. ишемический инсульт, деменция, черепно-мозговая травма). Периферические (артериальные и венозные) сосудистые нарушения и их последствия (артериальная ангиопатия, трофические язвы); диабетическая полинейропатия (для всех, кроме инфузий в р-ре декстрозы). **Только для инфузий и инъекций:** заживление ран. Профилактика и лечение лучевых поражений кожи и слизистых оболочек при лучевой терапии. **Противопоказания:** Гиперчувствительность к препарату Актовегин® или аналогичным препаратам. **Только для раствора для инъекций и для инфузий:** декомпенсированная сердечная недостаточность, отек легких, олигурия, анурия, задержка жидкости в организме. **С осторожностью: Только для таблеток:** сердечная недостаточность II и III степени, отек легких, олигурия, анурия, гипергидратация; беременность, период лактации. **Только для раствора для инъекций и для инфузий:** гиперхлоремия, гипернатриемия, сахарный диабет (для инфузий в р-ре декстрозы). **Способ применения и дозы: Р-р для инфузий:** в/в или в/а по 250–500 мл (1000–2000 мг) в сутки. **Р-р для инъекций:** в/а, в/в (в т.ч. и в виде инфузии) от 5 до 50 мл (200–2000 мг) в сутки, в/м по 5 мл (200 мг) в сутки. **Для инфузий и инъекций:** скорость введения около 2 мл/мин. Дозировка и длительность курса лечения определяются индивидуально, согласно симптоматике и тяжести заболевания. **Таблетки:** внутрь 1–3 таб. 3 раза в день. Дозировка и длительность курса лечения определяются индивидуально, согласно симптоматике и тяжести заболевания. Полная информация о способах применения и дозах, используемых при различных заболеваниях и состояниях, содержится в инструкции по медицинскому применению препарата. **Побочное действие:** Аллергические реакции вплоть до анафилактического шока.

Информация для специалистов здравоохранения.

ООО «Такеда Фармасьютикалс»: 119048, г. Москва, ул. Усачева, дом 2, стр. 1.

Телефон: +7 (495) 933 55 11, Факс: +7 (495) 502 16 25

[www.actovegin.ru](http://www.actovegin.ru)

[www.takeda.com.ru](http://www.takeda.com.ru)