

ISSN 0044-4588

ЖУРНАЛ *Медицина*  
НЕВРОПАТОЛОГИИ  
И ПСИХИАТРИИ  
ИМЕНИ С.С.КОРСАКОВА



**М** ИЗДАТЕЛЬСТВО  
«МЕДИЦИНА»

ТОМ 90

**7 • 1990**

И. В. Ганнушкина, Л. В. Комелькова, М. Моссаковски, Я. Рафаловска,  
С. Я. Краевский

## БЕЛКИ ОСТРОЙ ФАЗЫ И ИММУНОГЛОБУЛИН G В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ТКАНИ МОЗГА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Институт неврологии (дир.— член-корр. АМН СССР проф. Н. В. Верещагин), Москва, Центр клинической и экспериментальной медицины, ПАН, Варшава

**Summary.** The dynamics of acute phase proteins (fibrinogen,  $\alpha_1$ -antitrypsin,  $\alpha_2$ -macroglobulin) and immunoglobulin G in the blood serum was studied and compared in 40 patients with ischemic brain stroke to the localization and distribution of those proteins in the cerebral tissue (4 sectional cases). To measure proteins in the blood and cerebral tissue, use was made of laser nephelometry, radial immunodiffusion and chemical methods with the employment of monoclonal antibodies to the proteins under study. It has been demonstrated that acute phase proteins detected in the blood in the acute period penetrate into the brain, being demonstrable there for a longer time than in the blood, thus attesting to the increased permeability of the blood-brain barrier and low intensity of their tissue metabolism in the area of foci of vascular brain impairment.

При развитии патологического процесса в мозге, в том числе и ишемии, происходит формирование иммунного ответа и предшествующей ему неспецифической защитной острофазовой реакции [2, 4, 7], которая характеризуется увеличением количества ряда циркулирующих белков крови. При этом некоторые из белков выступают в роли медиаторов, выполняющих различную функцию: активации комплемента, связывания лиганда, опсонизации, хемотаксиса, усиления сосудистой проницаемости и вазодилатации, свертывания и образования фибринового матрикса для репарации и т. д. (С-реактивный белок, компоненты комплемента, калликреин, фактор VIII); другие — в роли ингибиторов ферментов ( $\alpha_1$ -антитрипсин —  $\alpha_1$ -АТ, гаптоглобин, С<sub>1</sub>-ингибитор), транспортных белков (гаптоглобин, S-АА, С-реактивный белок) или так называемых репараторов и резорбторов ( $\alpha$ -АТ, орозомукоид) [1, 9].

По данным литературы [3, 6, 8], в синтезе отдельных острофазовых протеинов принимают участие не только клетки печени, но и мононуклеары, лимфоциты, моноциты, нейтрофилы. Как известно, увеличение концентрации этих белков происходит через 6 ч после стимула и достигает максимума через 48—72 ч, т. е. задолго до формирования иммунного ответа [5].

В литературе нет исследований, в которых бы сопоставляли динамику изменения белков острой фазы и иммуноглобулинов в сыворотке крови больных на разных стадиях формирования ишемического очага с локализацией и распределением этих белков в мозговой ткани. Такое исследование явилось целью настоящей работы.

Исследование белков острой фазы и уровня IgG в сыворотке крови больных ишемическим инсультом (ИИ) проводили в НИИ неврологии АМН СССР (Москва), а иммуноцитохимическое исследование секционного материала выполнено в неврологической клинике Медицинской академии в Варшаве (Польша).

Исследовали кровь 40 больных с ИИ в возрасте 37—60 лет, у которых он развился на фоне общего и церебрального атеросклероза с поражением магистральных артерий головы. У большинства пациентов поражение локализовалось в бассейне средней мозговой артерии, у остальных — в вертебробазилярном бассейне. У ряда больных

выявлялась умеренная артериальная гипертония. Лечение в основном было эффективным: улучшалось общее состояние пациентов, наблюдался регресс очаговой неврологической симптоматики.

Уровни белков острой фазы и иммуноглобулинов в сыворотке крови определяли методом лазерной нефелометрии (прибор «Берингверке», ФРГ) и методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Все показатели белков крови исследовали в динамике 4-кратно: в 1-й день инсульта, через 1, 2, 4 нед от начала инсульта. В качестве контрольной группы исследовали кровь 30 здоровых доноров.

Имуногистохимическое исследование ткани мозга проведено у 4 больных, умерших от ИИ спустя 11—35 сут в возрасте 50—87 лет. В 1 случае имелся ареактивный коагуляционный некроз, в остальных — обычный колликативный (вскрытие проводили менее чем через 24 ч после смерти).

Тканевые блоки, включающие в очаг инфаркта и ткани «здорового» полушария как контрольного, фиксировали в 10 % забуференном формалине и заливали парафином. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, ставили ПАС-реакцию, использовали методы исследования Клувера — Баррера и Маллори. Определение фибриногена,  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ),  $\alpha_1$ -АТ и локализации IgG проводили с помощью иммуноцитохимического метода Кунса с использованием моноклональных антител («Biomed», Польша, «Dako-path», Дания) по отношению к вышеуказанным белкам и выявлению их методом пероксидазы-антипероксидазы (ПАП) по L. Sternberger и соавт [10].

Результаты проведенных исследований показали, что в 1-й день инсульта, т. е. в острейший период, было выявлено достоверное увеличение уровня фибриногена до  $4,26 \pm 0,27$  г/л по сравнению с контролем —  $2,41 \pm 0,11$  г/л ( $p < 0,01$ ). В этот период отмечена тенденция к повышению  $\alpha_1$ -АТ и  $\alpha_2$ -МГ. Через 1 нед от начала инсульта отмечен максимальный подъем  $\alpha_1$ -АТ, причем уровень его составлял  $3,42 \pm 0,06$  г/л (в контроле

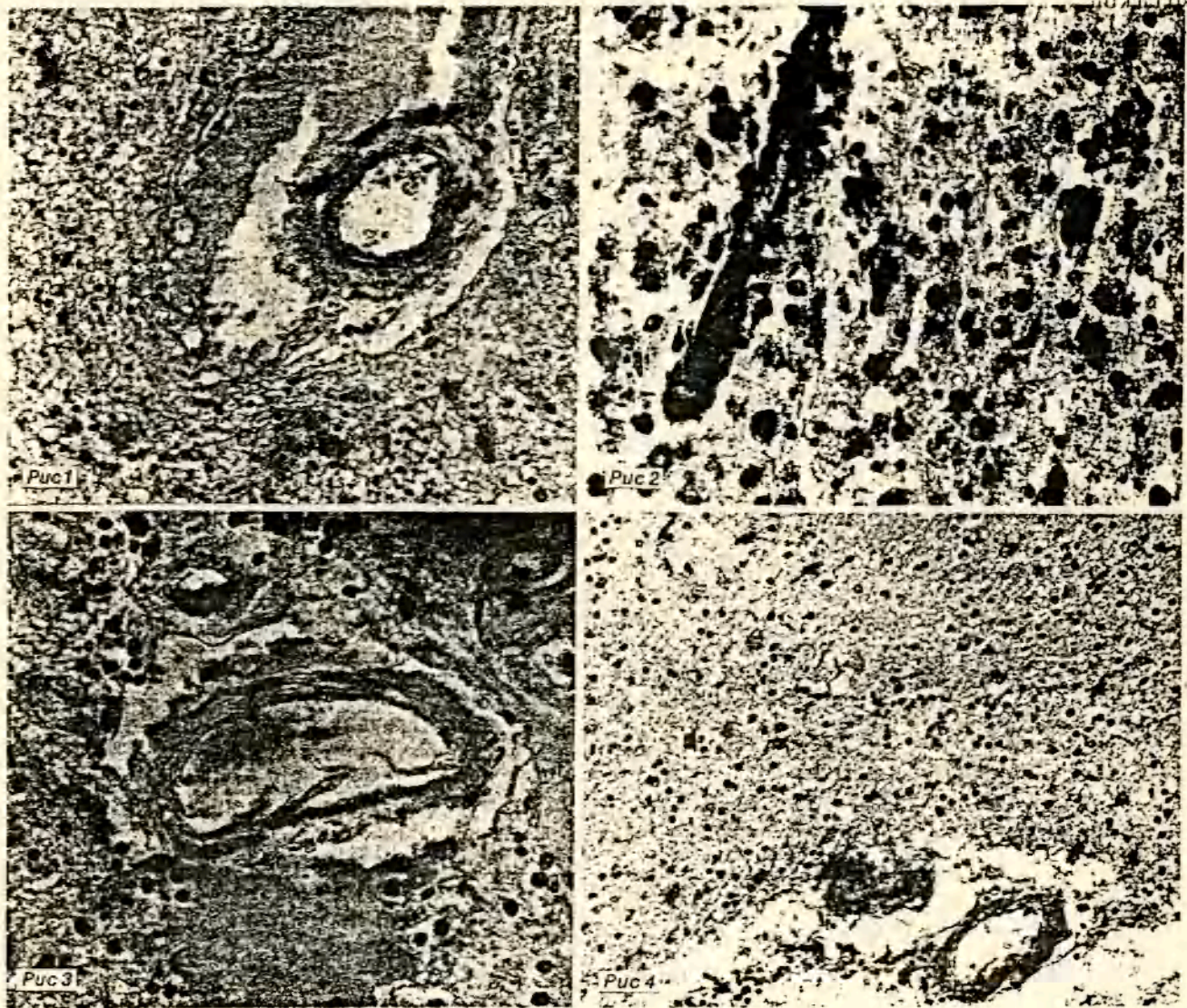


Рис. 1. Пропитывание фибриногеном стенки артериолы и периваскулярной ткани мозга в очаге некроза (35-й день).  $\times 250$ .

Здесь и на рис. 2—4; ПАП — реакция с моноспецифической антисывороткой (фирма «Biomed», ПНР) — рис. 3 и 4; (фирма «Dakorpaths» Дания — рис. 2).

Рис. 2. Интенсивное пропитывание  $\alpha_1$ -АТ сосудистой стенки и макрофагов в очаге некроза (15-й день).  $\times 250$ .

Рис. 3. Резко выраженное пропитывание  $\alpha_2$ -МГ стенки артериолы и прилежащих участков ткани мозга в очаге неполного некроза (35-й день).  $\times 500$ .

Рис. 4. Выраженное накопление IgG в гемистоцитах в очаге неполного некроза (35-й день).  $\times 500$ .

$2,15 \pm 0,14$  г/л,  $p < 0,01$ ), а концентрация  $\alpha_2$ -МГ —  $2,96 \pm 0,28$  г/л (в контроле  $2,02 \pm 0,17$  г/л,  $p < 0,02$ ). К концу 2-й недели содержание  $\alpha_2$ -АТ было еще повышенным —  $2,86 \pm 0,13$  г/л ( $p < 0,01$ ), тогда как уровень  $\alpha_2$ -МГ снизился до  $2,51 \pm 0,25$  г/л ( $p > 0,05$ ). К концу 4-й недели заболевания уровни указанных острофазовых белков приближались к контрольным показателям.

Важно отметить, что наряду с изменением концентрации острофазных белков у больных ИИ об-

наружены изменения и в содержании иммуноглобулинов. Так, в острый период инсульта выявлено снижение уровня IgG до  $10,87 \pm 0,36$  г/л по сравнению с контрольной величиной —  $12,2 \pm 0,18$  г/л ( $p < 0,05$ ). К 1-й и 2-й неделям инсульта не было достоверных различий в изменении этого показателя. К 4-й неделе, по мере восстановления нарушенных функций уровень IgG возрастал до  $14,16 \pm 0,53$  г/л ( $p < 0,05$ ).

На секционном материале в очаге некротической

Результаты иммуноцитохимического исследования

Возраст больного, годы	Длительность инсульта, дни	Вид некроза	Реакция	Фибриноген	$\alpha_1$ -АТ	$\alpha_2$ -МГ	IgG
50	12	Ареактивный	Диффузная	++	—	±	+++
			Околососудистая	±	—	+	—
87	11	Колликационный	Внутриклеточная	+	++	+	+++
			Диффузная	+	++	—	+++
87	15	Колликационный	Околососудистая	—	++++	+	++
			Внутриклеточная	±	++++	+	++
83	35	Коагуляционный Колликационный Транссудат	Диффузная	+	++++	+++	++++
			Околососудистая	+	—	—	+
			Внутриклеточная	+++	++++	++	++++
			Диффузная	+++	+	+++	+++
			Околососудистая	+	—	+++	+++
			Внутриклеточная	+++	+++	++	+++

ткани наблюдалась диффузная, околососудистая и внутриклеточная реакция всех исследуемых белков. Интенсивность реакции была разной и оценивалась по 3-балльной шкале (см. таблицу).

При исследовании фибриногена в очаге инфаркта и в демаркационной зоне была обнаружена диффузная или околососудистая реакция. Особенно интенсивный выход фибриногена из кровеносного русла отмечался вокруг сосудов, которым сопутствовал диадез эритроцитов. В полях неполного некроза иногда были окрашены гемистоциты. Реакция эта наблюдалась как после 12-го дня инсульта, так и на 35-й день (рис. 1).

Различные реакции обнаружены со стороны  $\alpha_1$ -АТ в ткани мозга. Так, интенсивная диффузная реакция найдена в свежих очагах и селективных некрозах коры, еще не содержащих макрофагов. Наиболее интенсивно окрашивались участки неполного некроза и в областях с диадезом эритроцитов. В скоплениях макрофагов реакция была как очень выраженной, так и менее интенсивной. Среди клеточных элементов особенно интенсивно окрашивались астроциты, пролиферирующие в очагах неполного некроза. Иногда внутриклеточная реакция наблюдалась также в нервных клетках коры с неполным некрозом (к 15-му дню инсульта) и в нервных клетках, отдаленных от очага некроза (рис. 2).

Распределение в ткани мозга третьего острофазового протеина —  $\alpha_2$ -МГ — выявлено в свежих очагах вблизи сосудов, при этом диффузная реакция в очаге инфаркта наблюдалась редко. Также редко обнаруживается околососудистая реакция в отдаленных неизмененных частях мозга. Иногда были окрашены нервные клетки и гемистоциты (рис. 3).

Имуноцитохимически IgG также обнаружен в ткани мозга в околососудистом пространстве. Интенсивно диффузно окрашивалась ткань мозга, нервные и глиальные клетки, а также кровеносные сосуды (рис. 4). Иногда наблюдалась внутриклеточная реакция коры вне очага некроза. Слабая реакция IgG обнаружена в очагах скопления фагоцитов.

Сопоставление результатов исследования острофазовых белков (фибриногена,  $\alpha_1$ -АТ,  $\alpha_2$ -МГ) и IgG в крови больных и на секционном материале в ткани мозга показало, что изменения этих белков в разные сроки инсульта различны. Концентрация белков в острой фазе в крови бывает увеличена уже с первых дней инсульта, а в дальнейшем происходит их нормализация. Гистохимическое исследование показало интенсивность реакции на белки в острой фазе во всех случаях, вплоть до инсульта месячной давности. Напротив, уровень IgG в сыворотке крови, уменьшаясь в 1-й день инсульта и нарастая к концу месяца, обнаруживается со 2-й недели и также сохраняется до 35-го дня после инсульта.

Следовательно, острофазовые белки, обнаруживаемые в крови с первых дней инсульта, проникают в мозг и достаточно длительное время там выявляются, что может указывать на увеличенную проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и низкую интенсивность их метаболизма в области очагов сосудистого повреждения мозга. Степень повышения проницаемости ГЭБ, по-видимому, различна для белков крови с различной молекулярной массой и определяется особенностями изменений сосудистой стенки. Разный характер повышения проницаемости сосудистой стенки в свою очередь может различным образом влиять на развитие отека мозга и тем самым определять тяжесть течения заболевания.

1. Алешкин В. А., Вашакмадзе Л. А., Алешкина Т. Н. // Сов. мед.— 1985.— № 5.— С. 51—55.
2. Ганнушкина И. В., Лебедева Н. В. Гипертоническая энцефалопатия.— М., 1987.— С. 165—171.
3. Веременко К. Н. // Клин. мед.— 1985.— № 12.— С. 21—27.
4. Комелькова Л. В. Соотношение белков острой фазы и показателей гуморального иммунитета у больных с цереброваскулярной патологией и в эксперименте: Автореф. дис... канд. биол. наук.— М., 1988.
5. Ларский Э. Г., Комелькова Л. В. // Мед. реф. журн.— XXII.— 1988.— № 12.— С. 33—37.
6. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов: Пер. с чеш.— М., 1985.— С. 314—323.
7. Стефани Д. В., Штеренгарц Б. П., Токсамбаева С. Ж. // Педиатрия.— 1987.— № 3.— С. 62—68.