

MECHANIZMY SEKUNDÁRNÍHO CEREBRÁLNÍHO POŠKOZENÍ

MUDr. Miroslav Kalina

Nemocnice Na Homolce, Praha

Primární mozkové infarkty spouštějí geneticky podmíněné děje sekundárního poškození, které zvětšují míru poškození i objem postižené tkáně. Jsou to: depolarizace membrány, biochemická kaskáda a intrakraniální hypertenze. Depolarizace presynaptické membrány je dána otevřením napěťově ovládaných Na^+ a Ca^{2+} kanálů s následným výlevem glutamátu, který masivně aktivuje AMPA, NMDA a kainátové receptory, jejichž iontovými kanály masivně vstupuje Ca^{2+} do buněk. Tím se spouští kaskáda dějů, na jejichž konci je řízený (apoptóza) nebo neřízený (nekróza) zánik buňky. Výrazně se uplatní vysoce toxické volné radikály (zejména superoxidový, hydroxylový, peroxinitrát), které spouštějí destrukci buněčných membrán, cytoskeletu a zánětlivou kaskádu. V současnosti neexistuje lék, který by biochemickou kaskádu výrazněji ovlivnil. Vysoce účinná jsou ale obecná neurointenzivistická opatření jako léčba intrakraniální hypertenze, udržování dostatečně vysokého TK, euglykémie a normotermie, kvalitní ventilace a obecná medicínská péče.

Klíčová slova: sekundární mozkové poškození, biochemická kaskáda, volné radikály, reperfuční poškození, neurointenzivní péče.

Neurol. pro praxi, 2007; 1: 10–12

Seznam zkratk

AMPA – amino-hydroxy-metyl-oxazol-propionová kyselina

CBF – cerebral blood flow (cerebrální krevní průtok)

CPP – cerebral perfusion pressure (cerebrální perfuzní tlak)

GLU – glutamát

NMDA – N-metyl-D-aspartát

NO – oxid dusnatý

NOS – syntetáza oxidu dusnatého

SOD – superoxidová dismutáza

VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

1. Primární a sekundární poškození

Na začátku je vždy primární infarkt, jímž může být komoče, kontuze, komprese, difúzní axonální poranění, ischemie, hemoragie, zánět či metabolické poškození mozku. Lze mu zabránit alespoň v části případů prevencí, například úpravou dopravních předpisů, dietními návyky, kontrolou hypertenze či diabetu, zákazem reklam na tabákové výrobky, zdravým životním stylem apod.

Primární infarkt nastartuje geneticky naprogramovanou odpověď, tedy kaskádu dějů, které oproti počátečnímu stavu obvykle zhorší stupeň poškození a zvětší postiženou oblast. Infarkt postihuje všechny cerebrální struktury, tedy nejen neurony, ale také gliální buňky, cévy a hemoencefalickou bariéru.

V oblasti infarktu (např. u ischemie) nebo i ve vzdálených oblastech (např. u kraniocerebrálního poranění) dochází k poruše autoregulace cerebrálního krevního toku (CBF), a to v počáteční fázi nejčastěji ve smyslu vazoparalýzy – tedy vazodilatace – s výsledným zvětšením vaskulárního kompartmentu, překrvením (brain swelling). V pozdějších fázích zejména tam, kde proběhla extravazace, může

dojít k vazokonstrikci s následnou hypoperfúzí až ischemií.

Postižení hemoencefalické bariéry je společným důsledkem všech typů primárního infarktu a vede k úniku tekutiny do intersticia, což je podstatou vazogenního edému, který pozorujeme časně jako hypodenzitu na CT mozku. V postižené oblasti selhává energetický metabolismus buněk, protože mechanismy sekundárního cerebrálního poškození postihují především buněčnou membránu a vedou proto k selhání aktivních transportních mechanismů a k postupnému otoku buňky – k cytotoxickému edému.

Na sekundárním cerebrálním poškození se účastní tři základní mechanismy:

1. Depolarizace buněčné membrány
2. Biochemická kaskáda
3. Intrakraniální hypertenze

1.1. Depolarizace buněčné membrány

Udržení normální polarizace neuronální membrány je energeticky velmi náročný proces, který spotřebovává podstatnou část z 20 % klidového srdečního výdeje určeného pro mozek. Základním zdrojem makroergních fosfátů je aerobní glykolýza. I při krátkodobém výpadku přísunu kyslíku dojde k vyčerpání makroergních fosfátů, k selhání aktivních transportních mechanismů na membránách a v důsledku toho k influxu Na^+ , Cl^- , vody a posléze i Ca^{2+} do buňky a k efluxu K^+ z buňky. Při takto vzniklé depolarizaci neuronální membrány se otevírají napěťově ovládané (voltage gated) Na^+ a Ca^{2+} kanály, uvolňují se excitační mediátory (zejména glutamát), které mají receptory především na postsynaptické membráně, ale byly prokázány i presynapticky lokalizované receptory, které mohou dále akcelarovat depolarizaci

a výlev glutamátu (GLU). Výsledkem je pre- i postsynaptická depolarizace buněčné membrány, která spouští sebezničující biochemickou kaskádu.

1.2. Biochemická kaskáda

Za normálních okolností je GLU z extracelulárního prostoru rychle odstraňován aktivními mechanismy: ze synaptické štěrby hlavně reuptakem do presynaptického segmentu, odjinud především glií. V oblasti energetické deplece je ale eliminace GLU velmi zpomalena a dochází k masivní aktivaci GLU receptorů, což je jeden ze základních spouštěčů biochemické kaskády.

Glutamátové receptory jsou dvojího typu:

- metabotropní, které cestou sekundárních posílčků (secondary messengers) aktivují „signální“ intracelulární G-proteiny.
- ionotropní, které jsou vázány na iontové kanály a mají 3 základní typy:
 - **NMDA** (N-metyl-D-aspartát)
 - **AMPA** (amino-hydroxy-metyl-oxazol-propionovou kyselinu)
 - **kainátové**

NMDA receptory jsou tvořeny kombinací subjednotek NMDAR 1A-G, NMDAR 2A-D a jsou vázány na kalciové kanály, jimiž po aktivaci receptoru vstupuje Ca^{2+} do buňky. Mají vysokou afinitu ke glutamátu a jako koagonistu vyžadují glycin (v ionoforu je glycinové vazebné místo). Aktivace i deaktivace NMDA receptorů je pomalý děj. Na aktivaci receptorů se může podílet i astroglíí produkovaný D-serin.

AMPA receptory tvoří čtyři subjednotky značené 1–4, mají krátký aktivační čas, tedy na excitační mediátory odpovídají velmi časně po primárním infarktu. Jsou zodpovědné za rychlý influx Ca^{2+} do buněk.

Masivní vstup Ca^{2+} do buňky má fatální účinek, protože aktivuje řadu autodestrukčních procesů. Jejich významnými nositeli jsou proteázy (proteolytické enzymy přímo destruuji buněčné struktury včetně receptorových), fosfolipáza A2 (dezintegruje fosfolipidové dvojvrstvy buněčné membrány i endoplazmatického retikula za vzniku mastných kyselin a kyseliny arachidonové), syntetáza oxidu dusnatého (NOS), calpains (přímo destruuji buněčné struktury a přispívají k nekróze), gelsolin (přerušuje aktinová mikrofila-menta – uzavrou se Ca^{2+} kanály otevírané napětově i NMDA receptorem, urychluje apoptózu a aktivuje caspázu, další enzym zprostředkující apoptózu).

V této fázi již vznikají ve zvýšené míře volné radikály. Extrémní excitabilita neuronu s depolarizovanou membránou, jejíž repolarizační schopnost je omezena energetickou deplecí a excesivní stimulací excitačními mediátory, vede k frekventním výbojům s prohlubujícím se energetickým kolapsem buňky, k excitotoxickému poškození, na jehož konci je apoptóza nebo nekróza.

1.3. Volné radikály

Významným nositelem sekundárního poškození jsou volné radikály. Volným radikálem se rozumí molekula nebo atom s volným nepárovým elektronem v zevním orbitu. Biologicky významné volné radikály jsou jednak deriváty molekulárního O_2 , jednak oxidu dusnatého (NO). Zdrojem volných radikálů jsou akumulované redukované metabolity a mitochondrie při nedostatku kyslíku, aktivované fagocyty a neutrofily, cyklus kyseliny arachidonové, oxidace catecholaminů, působení volného Fe^{2+} a řada dalších metabolických procesů. Volné radikály působí zejména peroxidací lipidů, přímou inhibicí mitochondriálních enzymů v dýchacím řetězci, inaktivací glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázy, inhibicí membránové Na/K ATPázové aktivity, blokádu membránových Na^+ kanálů a řadu dalších změn strukturálních proteinů. Dále jsou schopny iniciovat přerušování jednoduchých řetězců DNA s následnou aktivací jaderného enzymu poly(ADP-ribose) syntetázy, což vede k těžkému energetickému selhání buňky a k nekróze buňky.

Volné radikály derivované z O_2 jsou superoxidový radikál, perhydroxylový radikál, hydroxylový radikál a singletový kyslík, který přímo oxiduje množství biologických struktur včetně lipidových. Hydroxylový radikál je nejvíce reaktivní a nejméně selektivní ze všech O_2 volných radikálů. Superoxidový radikál za fyziologického pH 7,4 se ve vodném roztoku během sekund mění na peroxid vodíku. V kyselém pH, což je v mozku typicky prostředí v oblasti hypoxie nebo jiného primárního infarktu, se tato reakční rovnováha vychyluje a vzniká hydroxylový radikál. Nadbytečný superoxidový radikál je eliminován různými typy su-

peroxidové dismutázy (SOD) za vzniku O_2 a H_2O_2 , avšak katalytickým působením Fe^{2+} , které se v oblasti energetické deplece nachází v dostatečném množství, se H_2O_2 mění na hydroxylový radikál a normální eliminace H_2O_2 působením katalázy je nedostatečná. Těžká toxicita radikálů superoxidové řady je založena na extrémní přímé reaktivitě s mnoha biologickými molekulami – lipidy, DNA, RNA, catecholaminy, steroidy a dalšími, v důsledku čehož jsou přímo přerušovány kovalentní vazby v proteinech a uhlovodících, dochází k peroxidaci lipidů a přímé destrukci buněčných membrán (1). Jsou čtyři možné strategie, jak eliminovat kyslíkové radikály: zabránit jejich lokální produkci, dodat SOD ev. její deriváty nebo katalázu (eliminuje H_2O_2) do postižené oblasti nebo dodat chelát, který vyváže stopové Fe^{2+} a tak zastaví přeměnu H_2O_2 na hydroxylový radikál (2).

Volné radikály derivované z NO jsou syntetizovány z L-argininu některou z NO syntetáz (endotelální, mozková a makrofágová). NO je malá lipofilní molekula rychle difundující do buněk. Za fyziologických okolností snižuje koncentraci intracelulárního Ca^{2+} a relaxuje hladkou svalovinu cév, inhibuje adhe-rování a agregaci destiček a má řadu dalších funkcí (účast v neuronální migraci, mechanismech paměti aj.). Ve vysokých koncentracích je však NO toxický a v přítomnosti superoxidového radikálu se vytváří těžce toxický peroxinitrát (ONOO^-), který oxiduje membránové lipidy, blokuje mitochondriální oxida-tivní metabolismus, inhibuje SOD a má řadu dalších efektů (3).

Všechny typy volných radikálů mají schopnost narušovat strukturu DNA a RNA, a tak spouštět nebo inhibovat specifickou proteosyntézu.

Možnosti v medicínské praxi farmakologicky ovlivnit množství aktivních volných radikálů v postižené mozkové tkáni jsou velmi omezené. Podávání přirozených lapačů volných radikálů (scavengerů) jako tokoferol nebo kyselina askorbová nebo inhibitorů zánětu není dostatečně účinné. Možností do budoucna jsou katalyzátory odbourávání peroxynitratu (například syntetické porfyrinové komplexy), katalytické antioxidanty na bázi SOD a katalázy (v současnosti ale není k dispozici nízkomolekulární látka s použitelnými farmakokinetickými vlastnostmi), metaloporfyriny (také nepoužitelná farmako-kinetika) a pravděpodobně nejnadějnější jsou tzv. SOD-mimics, u nichž lze dosáhnout specifického účinku pouze v oblastech infarktu.

1.4. Zánětlivá odpověď

Zánětlivá odpověď je další reakcí organismu na primární infarkt. Je zprostředkována volnými radikály a cytokiny, které se masivně uvolňují v poškozené oblasti. Jejich zdrojem jsou imigrující leukocyty, jsou produkovány také glií, neurony a endotelem v oblasti

poškozené hematoencefalické bariéry. Pro některé cytokiny byla prokázána přímá neurotoxicita, například pro interleukin-1 nebo tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α). Astrocyty jsou velmi citlivé na hypoxický stres a uvolňují gliální fibrilární kyselý protein (GFAP), jehož hladina v likvoru může být markerem sekundární hypoxie po primárním infarktu (4).

Zánětlivá reakce je vedle produkce volných radikálů jedním z hlavních mechanismů reperfuze poškození, při němž je definitivně narušena hematoencefalická bariéra se všemi důsledky včetně otoku mozku, což je závažný problém u všech cerebrálních katastrof. Společným rysem je vztah k tkáňové hypoxii, která je vedle zánětu zásadním faktorem při vzniku vasogenního edému. Vaskulární endotelální růstový faktor (VEGF) je znám jako induktor angiogenezy, je ale zároveň faktorem vaskulární permeability. Expres VEGF genu se při hypoxii zvyšuje a spojuje tak hypoxii a poruchu hematoencefalické bariéry (5).

Zánětlivou odpověď výrazně akcentuje nekrotický rozpad buňky. Možnosti farmakologicky ovlivnit zánětlivou odpověď jako součást kaskády sekundárního cerebrálního poškození jsou minimální a kortikoidy ani nesteroidní antirevmatika nepřinesla významný benefit. Jedinou výjimkou s prokázáním léčebným účinkem je metylprednisolon u míšních traumat.

1.5. Reperfuze postižení

V ischemické oblasti je porucha hematoencefalické bariéry, ale minimální či absentující přítok krve vede k omezenému úniku tekutiny do intersticia, tedy k malému vazogennímu edému, k rychlému vyčerpání zásob glukózy a extracelulárního kalcia a k omezenému vstupu bílých krevních elementů do ložiska. Proto se spouští zánětlivá kaskáda jen omezeně. Při plné perfuzi do těžce poškozené tkáně se dodají chybějící substráty, masivně imigrují leukocyty, spustí se zánětlivá kaskáda za masivní produkce volných radikálů, akcelerují se autodestrukční procesy vedoucí k nekróze, narůstá rozsah ireverzibilně postižené tkáně a smíšený edém. Vzhledem k hrubému narušení hematoencefalické bariéry se výrazně zvyšuje pravděpodobnost sekundární hemoragické infarkce a intracerebrálního krvácení.

2. Apoptóza a nekróza

Apoptóza je aktivní, geneticky řízený proces vyžadující energii, syntézu RNA a specifických proteinů. Neuron se svraštuje, jádro se dezintegruje a fragmentuje, organely – zejména ribozomy a některé mitochondrie – dočasně zachovávají integritu a vedou k syntéze proteinů, které umožní řízený zánik buňky. V případě neuronů se postupně deak-

tivuje DNA, zvyšuje se hladina caspázy – nositele apoptózy – a celá buňka zkondenzuje svůj obsah, aniž by se do okolí dostaly toxické produkty jako proteázy, volné radikály, excitační aminokyseliny a mediátory zánětu. Gliální buňky pak bez zánětlivé reakce obklopí svrstětlou kompaktní buňku a ta je požději fagocytována.

Nekróza je důsledkem těžkého primárního inzultu nebo nezvladatelné biochemické kaskády. Jde o rychlou neuronální smrt s rozpadem buňky, na který navazuje zánětlivá a úklidová reakce s účastí cytokinů, s produkcí volných radikálů, s uvolněním glutamátu z rozpadlých neuronů, s aktivací leukocytů a fagocytů. Mikrocirkulace v oblasti nekrózy a v širokém okolí se hrubě omezí pro adherování a vycestování leukocytů, zejména neutrofilů.

Apoptóza je tedy řízený zánik buňky s minimálním vlivem na okolí, zatímco nekróza buňky má široké devastující účinky.

3. Farmakologické možnosti ovlivnění sekundárního cerebrálního poškození

Kýžený neuroprotektivní lék by měl působit v dostatečně dlouhém terapeutickém okně, kauzálně (známým mechanismem účinku), jednoznačně (přesvědčivé výsledky klinických studií s efektem na všechny hlavní i vedlejší cílové parametry) a bez vedlejších účinků. Lék splňující tato kritéria v současnosti neexistuje.

Vedle výše zmíněných látek s potenciálem zredukovat koncentraci volných radikálů v postižené tkáni je výzkum zaměřen na další mechanismy, jejichž ovlivněním by mohly být katastrofické důsledky sekundárního cerebrálního poškození zmírněny.

1. Inhibice presynaptického vylévání glutamátu – výzkum se soustředí hlavně na blokátory napětově ovládaných Na^+ kanálů, přičemž již známé látky (riluzol, lamotrigin, lubeluzol, lifarizin, řada dalších molekul) zdaleka nesplňují zadaná kritéria.
2. Inhibice postsynaptických glutamátových receptorů
 - a) Nekompetitivní antagonisté NMDA receptoru jsou většinou lipofilní, mají dobrou farmakokinetiku, testoval se např. disoclipin, aptiganel, memantin, ketamin a další. Tato skupina je jistě perspektivní.
 - b) Kompetitivní antagonisté NMDA receptoru měly zatím nepříjemné farmakokinetické vlastnosti.

- c) Antagonisté glycinového místa NMDA receptoru
- d) Antagonisté Non-NMDA receptorů
3. Blokáda kalciového kanálu se nabízí jako velmi perspektivní. Bohužel jediným lékem v praktickém použití je nimodipin, jehož účinnost je založena na negativním časovém okně, tedy podání před vznikem inzultu (vasospazmu u subarachnoidálního krvácení)
4. Inhibice calpainů nebo caspázy
5. Farmakologické ovlivnění dalších mechanismů

Současný stav nedává mnoho prostoru pro účinnou farmakologickou neuroprotekcí. Snaha pomoci nesmí vést k neodůvodněné polypragmazi a statisticky hraničně významné reference z firemních studií nejsou dostatečnou indikací k léčbě. Jediným ověřeným efektem polypragmazi jsou vedle vysokých nákladů nepředvídatelné a nekontrolovatelné lékové interakce s výsledným iatrogenním poškozením, často těžkým včetně multiorgánového selhání.

4. Reálné možnosti ovlivnění sekundárního cerebrálního poškození

Absence specifické farmakologické intervence rozhodně neznamená, že nemáme možnosti, jak stav nemocného zásadně ovlivnit.

Především je to plná kontrola cerebrálního perfuzního tlaku, který je rozhodující pro zachování krevního toku všemi oblastmi mozku. Nízký cerebrální perfuzní tlak (CPP), který je definován jako rozdíl mezi středním arteriálním a intrakraniálním tlakem, způsobí difúzní ischemické poškození i mimo oblast primárního inzultu. CPP pod 50 mm Hg již vede k difúzní ischemii. Abychom zabránili kritickému poklesu CPP, je nutná adekvátní léčba intrakraniální hypertenze, správná a včasná neurochirurgická indikace a udržování dostatečného systémového krevního tlaku. I několikaminutový výrazný pokles krevního tlaku – a ve stavu intrakraniální hypertenze to již je třeba normální

hodnota kolem 110/70 – může zásadně změnit osud nemocného; místo výsledného ložiskového deficitu dojde k difúznímu poškození nebo k smrti. Tytéž fatální důsledky mohou mít epizody neléčených arytmií se snížením srdečního výdeje. Vedle klasického mannitolu se stále více prosazuje léčba bolusovým podáváním hypertonickeho (3–10%) roztoku NaCl. V řadě případů je indikována zevní komorová drenáž nebo dekompresní kraniektomie – znalost jejich indikací je pro neurointenzivistu zcela zásadní.

Další klíčovou oblastí je kvalitní ventilace. Hypoxie a hyperkapnie výrazně akcelerují mechanismy sekundárního cerebrálního poškození jednak na úrovni biochemické kaskády, jednak zvětšením intrakraniálního vaskulárního kompartmentu a zhoršením nitrolební hypertenze.

Do biochemické kaskády zasahuje také hyperglykémie, a to zejména tím, že akcentuje laktátovou acidózu v oblastech nedostatečně perfundované mozkové tkáně, čímž se reakční rovnováhy některých klíčových metabolických cest posouvají směrem ke zvýšené produkci volných radikálů (6). Dnes již řízená euglykémie a vyloučení přívodu čisté glukózy v prvních nejméně 2 dnech po inzultu patří k základním opatřením v neurointenzivní péči.

Výrazně negativní vliv má také hypertermie. Jednak zvyšuje metabolické nároky mozkové tkáně, jednak urychluje zničující metabolické procesy. Udržování centrální tělesné teploty pod 37 °C farmakologicky i fyzikálním chlazením je v současnosti také ověřený neuroprotektivní postup.

Neméně důležitá je prevence, časná diagnostika a řešení interních komplikací, kvalitní ošetrovatelská a rehabilitační péče.

MUDr. Miroslav Kalina
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2, 150 30 Praha 5
e-mail: miroslav.kalina@homolka.cz

Literatura

1. Baethmann A, Eriskat J, Lehmborg J, Plesnila N (eds). Mechanisms of Secondary Brain Damage from Trauma and Ischemia – Recent Advances of Our Understanding. Springer, Wien, New York 2004. 123 s.
2. Cuzzocrea S. Antioxidant Therapy: A New Pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury. Pharm Reviews 2001; 1 (53): 135–159.
3. Goodyear-Bruch C. Oxidative Stress in Critically Ill Patients. Am Journal of Critical Care 2002; 11: 543–551.
4. Heike J et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression causes vascular leakage in the brain. Brain 2002; 11 (125): 2549–2557.
5. Marfella R. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. J Clin Invest 2001; 108 (4): 635–636.
6. Petzold A. Early identification of secondary brain damage in subarachnoid hemorrhage: a role for glial fibrillary acidic protein. J Neurotrauma 2006; 23 (7): 1179–1184.
7. Salvemini D. Superoxide, peroxynitrite and oxidative/nitrative stress in inflammation. Biochem Soc Trans 2006; 34 (5): 965–970.