

На правах рукописи

Челяпина Марина Викторовна

**НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ
ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ПРОЦЕССЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СОЗНАНИЯ
ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЫ МОЗГА**

03.03.01 Физиология

14.01.11 Нервные болезни

Автореферат

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва 2012

Работа выполнена в Лаборатории общей и клинической нейрофизиологии (заведующая лабораторией – доктор биологических наук Шарова Елена Васильевна) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор Павел Милославович Балабан)

Научные руководители:

доктор биологических наук

Елена Васильевна Шарова

доктор медицинских наук

Олег Семенович Зайцев

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Валерия Борисовна Стрелец

доктор медицинских наук

Елена Анатолиевна Катунина

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научный центр неврологии»

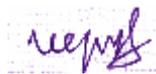
Российской академии медицинских наук.

Защита состоится « 19 декабря » 2012 года в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета Д.002.044.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН по адресу: 117485, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Автореферат разослан «__» ноября 2012 г. __

Ученый секретарь диссертационного совета,



Доктор биологических наук, в.н.с.

В.Н. Иерусалимский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ) относится к числу важнейших медико-социальных проблем, так как является одной из основных причин инвалидизации и летальности населения [Потапов А.А., Лихтерман Л.Б. с соавт, 2009]. Несмотря на значительные успехи в терапии этой патологии, стандарты лечения психических нарушений у больных с ТЧМТ на сегодняшний день отсутствуют.

Данная патология сопровождается не только повреждением морфологических структур и функциональных церебральных связей, но и сопряжена со сбоем деятельности основных регуляторных систем мозга. При этом наиболее тяжелые функциональные нарушения (включая глубокое угнетение сознания) и исходы наблюдаются при повреждении стволовых и подкорковых отделов головного мозга.

В остром периоде ТЧМТ происходит так называемая «медиаторная буря»: резкое увеличение в цереброспинальной жидкости дофамина, ацетилхолина, норадреналина, глутамата, серотонина, которое носит функционально разрушительный характер - с последующим длительным снижением уровня нейромедиаторов в ЦНС [Кондратьев А.Н., Ивченко И.М, 2002; Reilly P.L., Bullock R., 2005]. Причем, нейрохимические системы страдают как при непосредственном поражении анатомических структур, содержащих холинергические и дофаминергические нейроны, так и в ходе вторичного отека и гипоксии – вследствие высокой чувствительности этих нейронов к гипоксии [Chen Y, Shohami E, et al., 1998; Noble J.M., Hauser W.A., et al., 2007; Tenovuo O., 2005; Bales JW, Wagner AK, et al., 2009].

Снижение активности дофаминергической системы лежит в основе Болезни Паркинсона и различных видов паркинсонизма. Их клиническая картина описана многими авторами [Бархатова В.П. и др., 2002, Голубев В.Л. и др., 2000, Wagle, A C; Wagle SA, et al., 2000, Луцкий И.С., Евтушенко С.К., и др. 2011]. Основываясь на литературных данных, совокупные неврологические признаки снижения активности дофаминергической системы в виде повышения мышечного тонуса по экстрапирамидному типу, тремора покоя, гиперсаливации, потливости, сальности кожи, постуральных расстройств, а также снижения произвольной двигательной и психической активности, могут определяться как клинический «синдром дофаминергической недостаточности». Частично изучены также изменения электрофизиологических показателей мозга (ЭЭГ и ВП) при этих состояниях и выявлены их характерные особенности [Аракелян Р.К., Катунина Е.А., и др. 2005; Soikkeli R, Partanen J, et al., 1991; Fonseca L.C., Tedrus G.M., et al., 2009; Обухов Ю.В., Гнездицкий В.В. и др., 2011]. В ЭЭГ, в частности, они связываются с поведением прежде бета и тета диапазонов.

Снижение функциональной активности холинергической системы описано в литературе при Болезни Альцгеймера, деменциях, ряде токсических поражений головного мозга [Ивашенко О. В.,

Худошин В. К., 2005г; Terry, R. D., 1994; Яхно Н.Н., Преображенская И.С., 2005; Spaan P.E., Raaijmakers J.G., et al., 2003; Chen J.G., Charles H.C., 2000, Burtcher I.M., Holtas S., 2001]. Согласно этим данным, совокупные признаки снижения активности холинергической системы в виде снижения мышечного тонуса, сухости слизистых и кожных покровов, тахикардии, гипотонии желудочно-кишечного тракта, глазодвигательных нарушений, снижения произвольного внимания могут определяться как «синдром холинергической недостаточности». Особенности ЭЭГ при этих нозологиях также достаточно подробно рассматривается в работах различных авторов [Babiloni C., De Pandis M.F., et al., 2011, Изнак А.Ф., Гаврилова С.И. и соавт, 1999; Wada Y. et al., 1998; Pogarell O. et al., 2005, Пономарева Н.В., Митрофанов А.А., и др., 2007; Пономарева Н.В., 1998; Edman A. et al., 1995]. В большинстве публикаций они связываются с активностью альфа составляющих ЭЭГ.

В работах, посвященных нейротравме, показано, что клинические признаки, характерные для угнетения дофаминергической и холинергической систем головного мозга, могут проявляться на разных этапах восстановления сознания. Как правило, признаки недостаточности дофамина преобладают при поражении подкорковых структур мозга, а ацетилхолиновой – при диэнцефально-стволовых [Arciniegas D. et al, 1999; Bales J.W., Wagner A.K., et al., 2009; Зайцев О.С., 2011]. В более ранних исследованиях В.М. Угрюмова [1976] были описаны экстрапирамидная и диэнцефальная клинические формы ТЧМТ, включающие неврологические симптомы дисфункции дофаминергической и холинергической систем мозга – без учета степени угнетения сознания пациентов. Значимость указанных расстройств подтверждают современные гипотезы о важности состояния холинэргической и дофаминергической систем мозга в скорости восстановления психической деятельности и исходах после ТЧМТ [Arciniegas D., 2003; Bales J.W., Wagner A.K., et al., 2009]. Это согласуется с литературными данными об эффективности применения направленной терапии препаратами нейромедиаторного действия при ТЧМТ [Белкин А.А., Щеголев А.В., 2007, Van Reekum R., Bayley M., et al., 1995, Nickels, J.L., Schneider, W.N., et al., 1994, Kraus M.F. and Maki P.M., 1997, Donnemiller E., Brenneis C., et al., 2000, Зайцев О.С., 2005, Жаворонкова Л.А., 2009].

Таким образом, восстановление функциональной активности вышеуказанных нейрхимических систем мозга является универсальной задачей при лечении пациентов с различными вариантами травматического поражения головного мозга.

Все вышесказанное обосновывает цель и задачи настоящей работы.

Цель: исследовать клиничко-электрофизиологические (ЭЭГ) признаки дофаминергической и холинергической недостаточности в процессе восстановления сознания пациентов с тяжелой травмой головного мозга.

Задачи:

- 1) Выявить особенности пространственной организации ЭЭГ в динамике восстановления сознания больных с клиническими признаками дофаминергической недостаточности.
- 2) Выявить особенности пространственной организации ЭЭГ в динамике восстановления сознания больных с клиническими признаками холинергической недостаточности.
- 3) Сопоставить выделенные клинико-электроэнцефалографические варианты нейромедиаторной недостаточности со структурными особенностями травматического повреждения головного мозга.
- 4) Сравнить динамику нейрофизиологических и клинических показателей в группах, получавших и не получавших препараты с доказанным направленным нейротрансмиссивным действием (амантадин и ипидакрин).

Основные положения, выносимые на защиту:

- I. У пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой, сопровождающейся угнетением сознания, выявлены совокупности неврологических симптомов, специфичные для разных стадий восстановления психической деятельности (повышение мышечного тонуса по экстрапирамидному типу, тремор покоя, снижение произвольной двигательной и психической активности, вегетативные нарушения – при вегетативном состоянии и разных формах мутизма; снижение мышечного тонуса, глазодвигательные нарушения, снижения памяти и произвольного внимания - на более высоких уровнях восстановления) и расцениваемые, как синдромы недостаточности дофаминергической и холинергической систем головного мозга.
- II. Установлено, что наиболее четкими ЭЭГ-маркерами развития посттравматического синдрома дофаминергической недостаточности являются представленность и особенности локализации источников бета, а холинергической - альфа активности.
- III. Показана эффективность применения препаратов, направленных на регресс описанных состояний (амантадина сульфата – при дофаминергической, ипидакрина – при холинергической недостаточности), что подтверждает правомерность выделения этих клинико-энцефалографических синдромов и способствует индивидуальному, клинически и физиологически обоснованному подбору терапии при тяжелой травме мозга.

Научная новизна и теоретическая значимость

В клинической картине пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой, сопровождаемой длительным угнетением сознания, впервые описаны неврологические симптомы и соответствующие им изменения ЭЭГ, обусловленные, по данным литературы, снижением активности дофаминергической и холинергической систем головного мозга. Впервые рассмотрена приуроченность этих симптомов к определенным этапам восстановления психической деятельности. Выявлены также структурные изменения, значимо определяющие развитие того или иного варианта клинической симптоматики.

Успешное применение направленной терапии с доказанным нейротрансмиттерным действием (амантадина сульфата – при дофаминергической, ипидакрина – при холинергической недостаточности) в виде более быстрого регресса клинических симптомов служит подтверждением дисфункций рассматриваемых нами нейрохимических систем.

Детальный анализ паттерна ЭЭГ, его пространственно-временной организации и локализации источников доминирующих видов активности способствовал выявлению электрофизиологических маркеров исследуемых синдромов, а также уточнению нейрофизиологических механизмов их формирования и регресса при ТЧМТ. Выявлено сходство описанных нами клинических и электрофизиологических проявлений при ТЧМТ с традиционно связываемыми в литературе с признаками дисфункции дофаминергической и холинергической систем головного мозга, что обосновывает правомерность выделения синдромов дофаминергической и холинергической недостаточности в клинической картине травматической болезни головного мозга и их значимость в процессе восстановления психической деятельности после тяжелой травмы мозга.

Показано, что значительной положительной динамике в восстановлении психической деятельности в виде появления выполнения инструкций, речевой продукции сопутствует нормализация когерентности ЭЭГ между симметричными лобно-полюсными областями коры в диапазоне 10,5-12,5 Гц, а также усиление ее по бета-активности частотой 17,5-23 Гц в левом полушарии головного мозга. Это важно в плане уточнения электрографических коррелятов сознания человека.

Практическая значимость

Установленные в диссертационном исследовании особенности ЭЭГ и клинической картины синдромов дофаминергической (ДН) и холинергической недостаточности (ХН) у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой могут быть использованы для их диагностики в ежедневной клинической практике. Данные о коррекции этих изменений при помощи Амантадина и Ипидакрина способствуют более обоснованному и успешному применению этих препаратов при лечении пациентов с ТЧМТ.

Полученные данные об особенностях изменений ЭЭГ у пациентов без применения препаратов направленного нейротрансмиттерного действия и на фоне их применения позволяют дифференцировать лекарственные эффекты и спонтанное восстановление активности двух исследуемых нейрохимических систем.

Обнаруженное соответствие между динамикой клинических и электроэнцефалографических симптомов ДН и ХН могут быть использованы в качестве показаний для применения и критериев эффективности применения препаратов направленного нейротрансмиттерного действия.

Апробация работы

Основные положения и результаты работы докладывались и обсуждались на: Конференции молодых ученых ИВНД и НФ РАН (2008, Москва); Отчетной конференции ИВНД и НФ РАН (2009, Москва); Всероссийской Конференция с международным участием “Актуальные вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности” (2008, Москва); Всероссийской научно-практической конференции “Количественная ЭЭГ и нейротерапия” (2009, Санкт-Петербург); Общероссийской конференция «Взаимодействие специалистов в оказании помощи при психических расстройствах» (Москва 2009); V Съезде нейрохирургов России (2009, Уфа); Всероссийской Научно-практической конференции «Инновационные технологии реабилитации инвалидов в Российской Федерации» (2009, Казань); Международная конференция по последним достижениям в области Нейротравматологии (2010 год Санкт-Петербург); XIX Международной Конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (2011, Гурзуф-Украина); Третьей Международной Конференции “Фундаментальные и прикладные аспекты восстановления сознания после травмы мозга: междисциплинарный подход (2012, Москва); Международной научно-практической конференции по нейрореабилитации в нейрохирургии (2012, Казань).

Публикации: По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах из рекомендованных ВАК.

Структура работы

Диссертация состоит из введения, 8 глав, в том числе обзора литературы, описания методов и результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, указателя библиографических источников. Работа изложена на 179 машинописных листах, содержит 93 рисунка и 11 таблиц. Список литературы состоит из 318 наименований (109 российских и 209 иностранных).

Материал и методы исследования

Проанализированы данные динамических клинико-энцефалографических исследований 98 пациентов (68 мужчин и 30 женщин), перенесших тяжелую черепно-мозговую травму и находившихся на лечении в Институте нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко РАМН. Возраст их варьировал от 13 до 57 лет (средний 31 ± 12 лет).

Группу нормы составили 54 здоровых испытуемых (38 мужчин, 16 женщин) в возрасте от 18 до 48 лет (в среднем $31,5 \pm 7$ лет). Все испытуемые имели неотягощенный органическими (в том числе травматическими) повреждениями головного мозга анамнез.

У большинства пациентов ТЧМТ была получена вследствие дорожно-транспортных происшествий - 78% пострадавших.

У всех пациентов было выявлено многокомпонентное и разноуровневое поражение мозга: различные варианты ушибов с отеком, интракраниальные гематомы с дислокацией в сочетании с диффузно-аксональным поражением мозга (ДАП) верифицированные при КТ и МРТ исследованиях.

Для всех наблюдений характерным было коматозное состояние в остром периоде травмы продолжительностью от 3 до 39, в среднем 16 ± 5 суток.

Наряду с качественной характеристикой состояния сознания (ясное сознание, умеренное и глубокое оглушения, сопор, кома) [Коновалов А. И. с соавт., 1982, 1986; Teasdale G. et al., 1979], проводили и ее ранжированную оценку: по стадиям восстановления психической деятельности [Доброхотова Т.А. с соавт., 1985, 1996г.; Зайцев, 1993] - в сопоставлении со шкалой комы Глазго [Teasdale G., et al., 1979].

К началу исследования уровень сознания пациентов был различным: кома – 16 пациентов, вегетативный статус – 16, акинетический мутизм – 7, мутизм с пониманием речи – 23, дезинтеграция речи – 6, амнестическая спутанность – 9, грубая когнитивная недостаточность – 3.

У 35 больных выявлялись клинические признаки синдрома дофаминергической недостаточности, у 37 – признаки синдрома холинергической недостаточности. В 11 случаях происходила смена одного изучаемого синдрома другим. У 16 пациентов ни один из изучаемых синдромов в клинике четко не верифицировался, поэтому они исключались из дальнейшего анализа.

В группу с клиническими проявлениями синдрома дофаминергической недостаточности были включены 35 пациентов (23 мужчины и 12 женщин, средний возраст 29 ± 13 лет). Все они перенесли ТЧМТ, сопровождавшуюся коматозным состоянием средней длительности 17 ± 6 суток, с последующим формированием клинического синдрома ДН в виде: повышения мышечного тонуса по экстрапирамидному типу, тремора покоя, гиперсаливации, потливости, сальности кожи, а также снижения произвольной двигательной и психической активности. Из этой группы были выделены пациенты, в курсе лечения которых не использовались препараты с доказанным нейротрансмиттерным действием: 18 пациентов в возрасте в среднем 28 ± 13 лет. Группу, получавшую дофаминергическую терапию (Амантадином) составили 17 человек в возрасте от 17 до 52 лет (в среднем 29 ± 13 лет).

Амантадина сульфат (ПК-Мерц) назначался перорально в дозе от 100 до 400 мг, курсом до 90 дней. Амантадина сульфат – агонист дофаминергических рецепторов. Данный препарат стимулирует выделение дофамина из нейрональных депо и повышает чувствительность дофаминергических рецепторов к медиатору (дофамину). Таким образом, даже при уменьшении образования дофамина в базальных ганглиях создаются условия для нормализации происходящих в них нейрофизиологических процессов.

Группу с клиническим синдромом холинергической недостаточности составили 37 человек (24 мужчины и 13 женщин, средний возраст 32 ± 14 лет). Все они перенесли ТЧМТ, сопровождающуюся коматозным состоянием средней длительностью $15 \pm 11,5$ суток, с последующим формированием клинического синдрома ХН в виде снижения мышечного тонуса, сухости слизистых и кожных покровов, тахикардии, гипотонии желудочно-кишечного тракта, глазодвигательных нарушений, снижения произвольности внимания.

Среди пациентов с клиническими проявлениями синдрома ХН выделена группа наблюдений, в курсе лечения которых не использовались препараты с доказанным нейротрансмиттерным действием: 19 человек в возрасте от 18 до 59 лет (в среднем $29,5 \pm 12$ лет). Группу, получавшую холиномиметическую терапию, составили 18 пациентов в возрасте в среднем 37 ± 16 лет.

В качестве холиномиметической терапии использовался Ипидакрин (Нейромидин), который назначался перорально в дозе от 5 до 80 мг курсом от 14 до 90 дней. В основе спектра фармакологической активности Ипидакрин лежит комбинация двух молекулярных эффектов – уменьшение распада ацетилхолина вследствие ингибирования холинэстеразы в синаптической щели и блокада калиевой проницаемости мембраны.

Динамику психического статуса оценивали совместно с д.м.н. О.С.Зайцевым в соответствии с представлениями о стадиях восстановления психической деятельности после комы, разработанными в НИИ нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко [Доброхотова Т.А. с соавт., 1985, 1996; Зайцев О.С., 1993, 2011].

При неврологическом осмотре пациентов оценивали изменения характера и выраженности ригидности и тремора, используя подшкалы из унифицированной рейтинговой шкалы оценки проявлений паркинсонизма [Falin С., Elton S. и соавт., 1987], изменения мышечной силы - по пятибальной Шкале Оценки Мышечной Силы [McPeak L., 1996; Вейс М., 1986]. Оценка вегетативных нарушений проводилась с привлечением подшкал для оценки нарушений потоотделения и слюнотечения [Коршунов А.М., 2002]. Учитывалось наличие симптомов орального автоматизма, судорожных приступов, глазодвигательных нарушений, а также выраженность признаков внимания (в виде слежения за предметами, фиксации взора).

Диагностика клинических синдромов дофаминергической и холинергической недостаточности проводилась нами на основании ряда описанных в литературе признаков. К числу характерных для синдрома ДН относили: повышение мышечного тонуса, тремор покоя, гиперсаливация, потливость (сальность кожи), постуральные расстройства, а также снижение произвольной двигательной и психической активности [Бархатова В.П. и др., 2002, Голубев В.Л. и др., 2000, Wagle, A.C.; Wagle SA, et all, 2000, Луцкий И.С., Евтушенко С.К., и др. 2011, Зайцев О.С., 2011; Угрюмов В.М., 1974, 202. Jackson, D.M., Westlind-Danielsson, A., 1994; 172. Floresco S.B., Magyar O., 2006]. К числу характерных при синдроме ХН - такие симптомы как снижение мышечного тонуса, сухость слизистых и кожных покровов, тахикардию, гипотонию желудочно-кишечного тракта, глазодвигательные нарушения [Иващенко О. В., Худошин В. К., 2005г, Зайцев О.С., 2011].

Клинические исходы травматической болезни оценивали по шкале исходов Глазго [Teasdale G., et all., 1979] через 1 год после ТЧМТ.

Непосредственные комплексные клинико-ЭЭГ исследования начинались через 21 и более суток после ТЧМТ (вне острого периода травмы). В группах, где использовались препараты нейрометаболического действия (2 основные группы), клинические и ЭЭГ - исследования

выполнялись накануне назначения препарата, через 14 дней от начала приема, в середине и после окончания курса препаратов.

В каждом ЭЭГ-исследовании проводили 19 - канальную регистрацию ЭЭГ. Запись выполняли на электроэнцефалографе фирмы Nichon Kohden (Япония) при постоянном времени 0,3 при фильтре верхних частот 35 Гц и монополярном отведении; в качестве индифферентных использовали ушные электроды.

Математическая обработка предварительно отредактированных (безартефактных) отрезков длительностью не менее 60 секунд проводилась на специализированном программно-вычислительном комплексе Нейрокартограф фирмы МБН (Россия) и включала спектрально-когерентный анализ [Русинов В.С., Гриндель О.М., и др., 1987] , а также трехмерную локализацию эквивалентных дипольных источников отдельных характерных компонентов ЭЭГ [Гнездицкий В.В., 2004].

Достоверность изменений частотных показателей и мощности (для всех отведений ЭЭГ), а также когерентности (для всех возможных сочетаний пар отведений) оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни при помощи оригинального пакета программ В.Г.Воронова - О.М.Гриндель [Гриндель О.М. с соавт, 2001, Воронов В.Г. с соавт., 2003]. Результаты анализа ЭЭГ в этих программах представлялись в цифровом и графическом виде. В последнем случае они наносились на проекцию скальпа в виде точек или линий определенной жирности или цвета.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета программ “Statistica 6.0 for Windows”, применяли параметрические и непараметрические методы математической статистики с использованием критерия Стьюдента, критериев Манна-Уитни и Вилкоксона. Для сравнения групп по качественным признакам использовали таблицы сопряженности с расчетом критерия χ^2 , а так же оценку с помощью критерия Крускала –Уоллиса.

Результаты исследования и их обсуждение

1. Клинико-нейрофизиологические особенности динамики восстановления пациентов с посттравматическим синдромом дофаминергической недостаточности

В результате анализа ЭЭГ у пациентов с клиническими признаками дофаминергической недостаточности (в виде повышения мышечного тонуса по экстрапирамидному типу, тремора покоя, гиперсаливации, потливости, сальности кожи, а также снижения произвольной двигательной и психической активности) выделено два типичных варианта. Электроэнцефалографическая картина 16 пациентов характеризовалась усилением в фоновом паттерне бета1-активности (частотой 12-14 Гц). Она регистрировалась на фоне общего снижения амплитуды биопотенциалов, уплощения рисунка и сглаженности зональных различий. При отсутствии основного (альфа) ритма в ЭЭГ наблюдалась полиритмия в виде сочетания нерезко выраженных диффузных полиморфных медленных (тета, дельта2) колебаний и бета-активности, преимущественно синхронизированной, акцентированной чаще в лобных областях. Временами

она проявлялась в виде вспышек с эквивалентными дипольными источниками (ЭДИ) в области подкорковых ядер (рис 1 А). Вторым вариантом ЭЭГ, у 19 пациентов, характеризовался большей полиритмией: наряду с отчетливой выраженностью синхронной бета-активности, специфичным для нее было диффузное усиление тета-ритма, зачастую асимметричного, что указывало на большее вовлечение в патологический процесс (раздражение) подкорковых структур мозга. Альфа-активность отсутствовала или проявлялась в форме отдельных диффузных групп колебаний. Анализ ЭДИ преобладающих в ЭЭГ видов активности показал, что источники тета-ритма чаще, нежели в подгруппе IA, локализовались в области подкорковых ядер и базально-лобных отделах полушарий, а бета - в мозжечке и подкорковых ядрах (рис.1Б). Описанные в настоящей работе сопутствующие изменения биоэлектрической активности согласуются с данными литературы о патологии дофаминергической системы и ее ЭЭГ-маркерах [Dimpfel W., 2008; Vabiloni C. et al, 2011; Аракелян Р.К., Катунина Е.А. и соавт., 2005; Обухов Ю.В., Гнездицкий В.В., 2008; Стрелец В.Б., 2004].

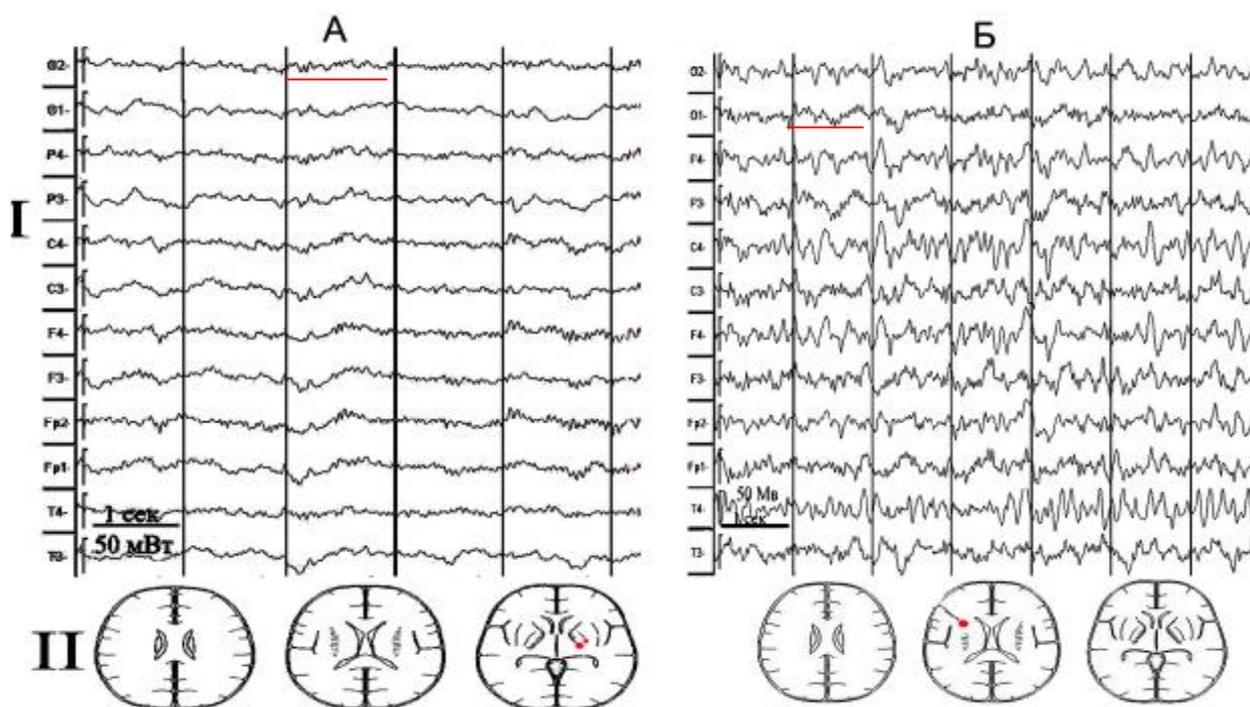


Рисунок 1. А - исходная (1,5 месяца после травмы) картина ЭЭГ (I) и локализация ЭДИ (КД>95) вспышек бета-активности (II) пациента Б.(14 лет) с клиническими признаками синдрома ДН на фоне акинетического мутизма; подгруппа с преобладанием бета-активности.

Б - исходная (1 месяц после травмы) картина ЭЭГ (I) и локализация ЭДИ бета-активности (КД 97) (II) у пациентки С. (37 лет) с клиническими признаками синдрома ДН на фоне мутизма с пониманием речи; подгруппа с преобладанием бета и тета активности.

Регресс синдрома ДН сопровождался учащением бета-активности ЭЭГ (от 13 до 16 Гц) и нормализацией ее мощности и когерентности, со стойким патологическим усилением правополушарных связей, особенно в затылочно-височных отделах. Статистически значимым при этом было нарастание мощности преимущественно в бета 1,2, а также тета2-диапазонах, наряду с усилением правополушарных когерентных связей бета1,2-составляющих (рис 2). В литературе

ранее было показано нарастание мощности в бета2 диапазоне при активации дофаминергической системы [Аракелян Р.К., Катунина Е.А. и соавт., 2005; Vabiloni С. et al, 2011]. Изменения же в более низком диапазоне бета1 (на частоте 12,9-14 Гц) описаны нами впервые.

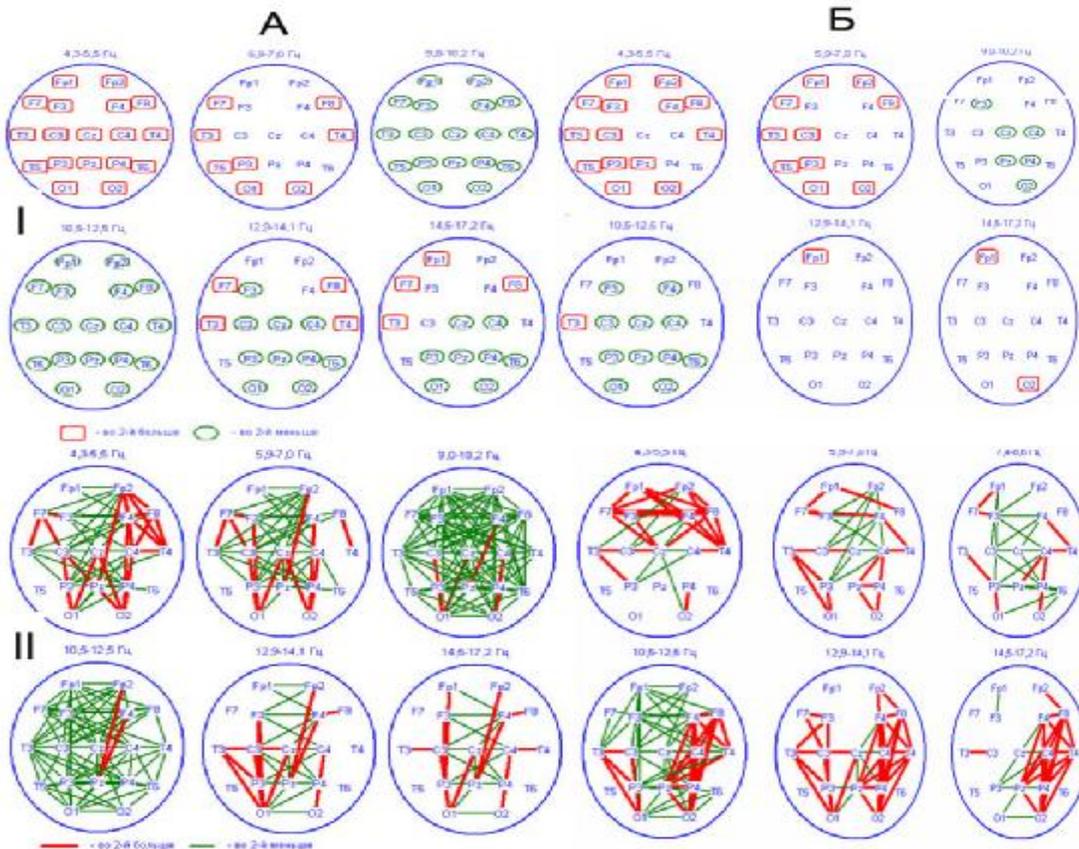


Рисунок 2. Статистически значимые ($p < 0,05$) изменения мощности (I) и когерентности (II) в начале (А) и конце (Б) исследования у пациентов с посттравматическим синдромом ДН (N=18) по сравнению с нормой (N=53).

В процессе динамического наблюдения пациентов с посттравматическим синдромом ДН (от 44 до 436 дней) отмечались положительные изменения в неврологическом статусе. Уменьшалась выраженность вегетативных нарушений (гиперсаливации и гипергидроза), тремора и ригидности (рис 3). При этом достоверные позитивные изменения выявлялись при оценке выраженности тремора и гипергидроза ($p < 0,05$). Эта динамика может быть объяснена включением более высоких звеньев дофаминергической системы, а также частичным восстановлением регуляции этой системы. Тем не менее, следует отметить, что такие симптомы как ригидность и тремор не исчезали полностью ни в одном из наблюдений, а лишь снижали свою выраженность. Проводившееся у ряда пациентов многолетнее наблюдение (до 5 лет) показало, что даже при полном восстановлении сознания и относительной сохранности психической активности, симптомы ДН (ригидность, тремор), а также характерные особенности паттерна ЭЭГ сохранялись.

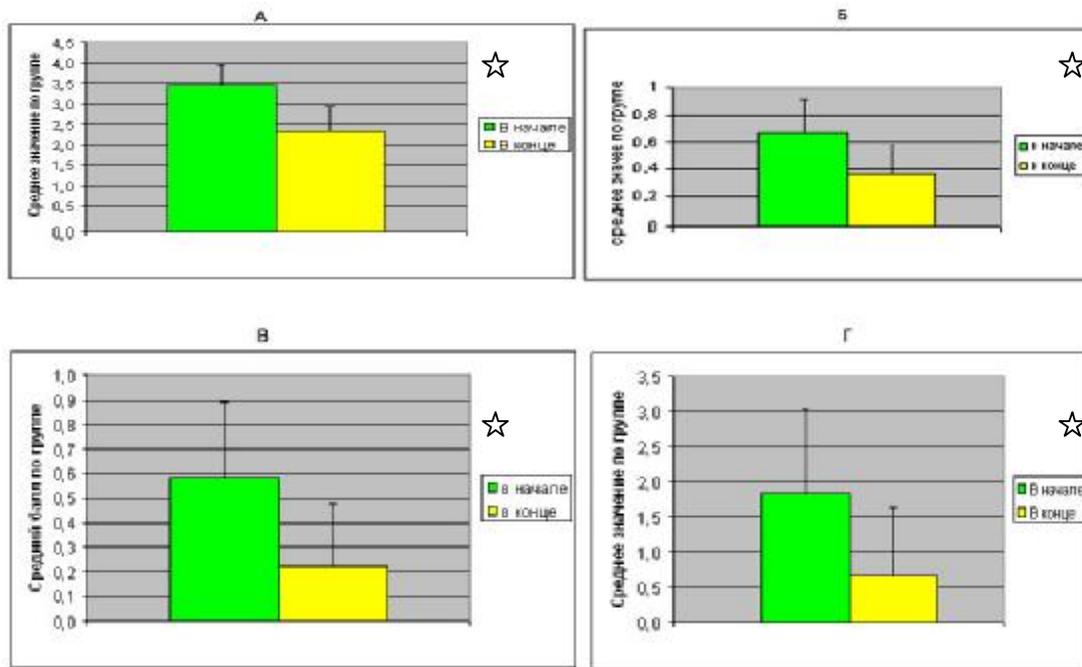


Рисунок 3. Динамика ригидности (А), гиперсаливации (Б), гипергидроза (В) и тремора (Г) у пациентов с синдромом ДН в начале и в конце исследования. Показаны изменения среднего балла по группе (*- $p < 0,05$).

Выявленные нами клинические особенности пациентов с посттравматическим синдромом ДН согласуются с представлениями об экстрапирамидной форме ТЧМТ [Угрюмов В.М., 1976], дофаминдефицитных состояниях при ТЧМТ мозга [Arciniegas D. et al., 2000,2006; Bales J. et al., 2009] и при других заболеваниях [Бархатова В.П. и др., 2002, Голубев В.Л. и др., 2000, Wagle, A.C.; Wagle SA, et al., 2000, Луцкий И.С., и др. 2011].

Рассматривая изменения психической деятельности, следует подчеркнуть, что при ТЧМТ синдром ДН выявлялся у пациентов на фоне крайне сниженного уровня сознания: в состояниях вегетативного статуса, акинетического мутизма, мутизма с пониманием речи, и у одного - в коматозном состоянии. В динамике многомесячного наблюдения в 70% случаев отмечалась смена уровня сознания на более высокий, в остальных (30%) регресс симптомов ДН происходил в пределах одного уровня сознания.

У 17 пациентов с посттравматическим синдромом ДН в комплексной терапии был применен Амантадин, являющийся непрямым агонистом дофаминовых рецепторов. Это сопровождалось более быстрым, по сравнению с контрольной группой без Амантадина (N=18), регрессом всех клинических симптомов ДН: в контрольной группе в среднем через $213,3 \pm 15$ дней, в группе с применением препарата через $153,3 \pm 12,7$ дня. В то же время динамика уровня сознания значительно не отличались от группы контроля.

Динамика паттерна ЭЭГ при этом была сходной с группой наблюдений без нейротрансмиттерной терапии. Отличными были изменения лишь некоторых параметров: на фоне применения Амантадина происходила статистически достоверная нормализация мощности бета-

активности в более широкой частотной полосе (от 13 до 23 Гц), чем в группе сравнения (от 13 до 17 Гц).

Данные литературы о топографии усиления когерентных связей достаточно противоречивы. Так в нашем исследовании применение Амантадина сопровождалось нарастанием в динамике мощности преимущественно бета3 (частотой 17-23 Гц) и тета2 (5,9-7,4 Гц) диапазонов по передним корковым областям чаще справа – даже по сравнению с нормой; усилением внутрислошарных связей (в затыльно-височных отделах) в бета3 диапазоне (чаще справа), а также в тета- диапазоне (5,9-7,4 Гц) в затыльно-височной области справа. Эти изменения отличаются от описанных ранее в литературе при применении Амантадина [Аракелян Р.К., Катунина Е.А., 2005]. Возможно, они являются специфичными для действия Амантадина при травматической болезни мозга.

Амантадин (ПК-Мерц) не оказывал значимого влияния на исход ТЧМТ, оцененный через 12 месяцев после травмы, но влиял на клинические симптомы ДН. Таким образом, максимальный эффект этого препарата выражен в период активного лечения, что подтверждается и данными литературы [Giacino J.T. et al., 2012].

Тем не менее, успешное использование направленной терапии нейротрансмиттерного действия может служить подтверждением того, что у пациентов с клиническими симптомами и описанной выше электроэнцефалографической картиной имеется снижение активности дофаминергической системы.

2. Клинико-нейрофизиологические особенности динамики восстановления пациентов с посттравматическим синдромом холинергической недостаточности

Для ЭЭГ пациентов с клиническими признаками холинергической недостаточности (в виде снижения мышечного тонуса, сухости слизистых и кожных покровов, тахикардии, гипотонии желудочно-кишечного тракта, глазодвигательных нарушений, снижения произвольной функции внимания) наиболее характерным оказалось наличие альфа-активности (хотя и неустойчивой, дезорганизованной, замедленной) - даже в наблюдениях с глубоким (кома) угнетением сознания (рис.4, I). Было выделено два типичных варианта ЭЭГ: сочетания альфа и бета активности (14 пациентов), а также сочетания альфа с медленными тета- и дельта-колебаниями (23 пациента). ЭДИ альфа-активности исходно были локализованы в области Варолиева моста и гиппокампа (рис 4, II). Выявленные особенности ЭЭГ соответствуют данным литературы, в которых описаны изменения биопотенциалов мозга при холинергической недостаточности. [Babiloni C., et al., 2011, Изнак А.Ф., Гаврилова С.И. и соавт, 1999; Wada Y. et al., 1998; Pogarell O. et al., 2005, Пономарева Н.В., Митрофанов А.А., и др., 2007; Пономарева Н.В. и соавт.,1998; Edman A. et al., 1995; Гаврилова С.И. и соавт, 1999, 2001].

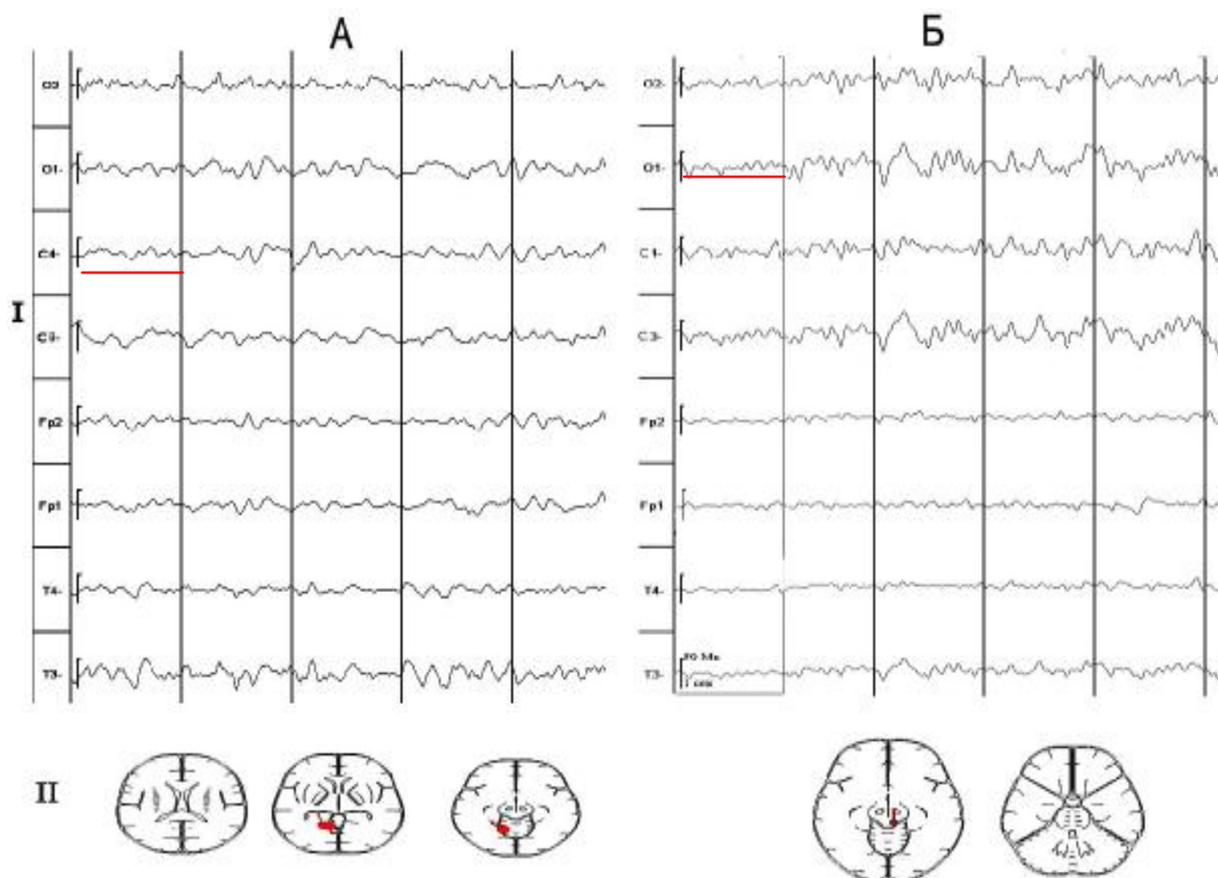


Рисунок 4. А - Начальная (40 дней после травмы) картина ЭЭГ (I) и локализация ЭДИ альфа-активности (КД>95) (II) пациента К. 30 лет с клиническими признаками синдрома ХН на фоне акинетического мутизма - из подгруппы с преобладанием альфа и бета активности.

Б - Изначальная (1 месяц после травмы) картина ЭЭГ (I) и локализация ЭДИ альфа-активности (КД>95) (II) пациента К.29 лет с клиническими признаками синдрома ХН на фоне комы - из подгруппы с преобладанием альфа и медленных форм активности..

Регресс посттравматического синдрома ХН сопровождался нормализацией ЭЭГ в виде нарастания частоты, амплитуды и регулярности альфа-ритма, а также восстановления его пространственной организации. Характерным было изменение топика его ЭДИ - от глубоких корковых структурам (в затылочную область) по мере регресса клинических признаков холинергической недостаточности.

Статистически значимым при этом было нарастание мощности альфа частотой 9-12,5 Гц в динамике, усиление левополушарных когерентных связей бета-активности 13-17 Гц, а также усиление межполушарных когерентных связей передних корковых зон с нормализацией по альфа 9-12,5 Гц (рис.5Б). При этом изначально характерным для пациентов с синдромом ХН было диффузное повышение мощности в дельта и альфа1 активности (7,5-8,5 Гц), усиление внутрислоушарных когерентных связей в дельта-диапазоне и коротких в альфа 1 в лобных областях по сравнению с нормой (рис5А).

Эти данные согласуются с литературными [Babiloni С., et all., 2011, Изнак А.Ф., Гаврилова С.И. и соавт, 1999; Wada Y. et al., 1998; Pogarell O. et al., 2005, Пономарева Н.В., Митрофанов А.А., и др., 2007; Lopes da Silva F.H., 2010].

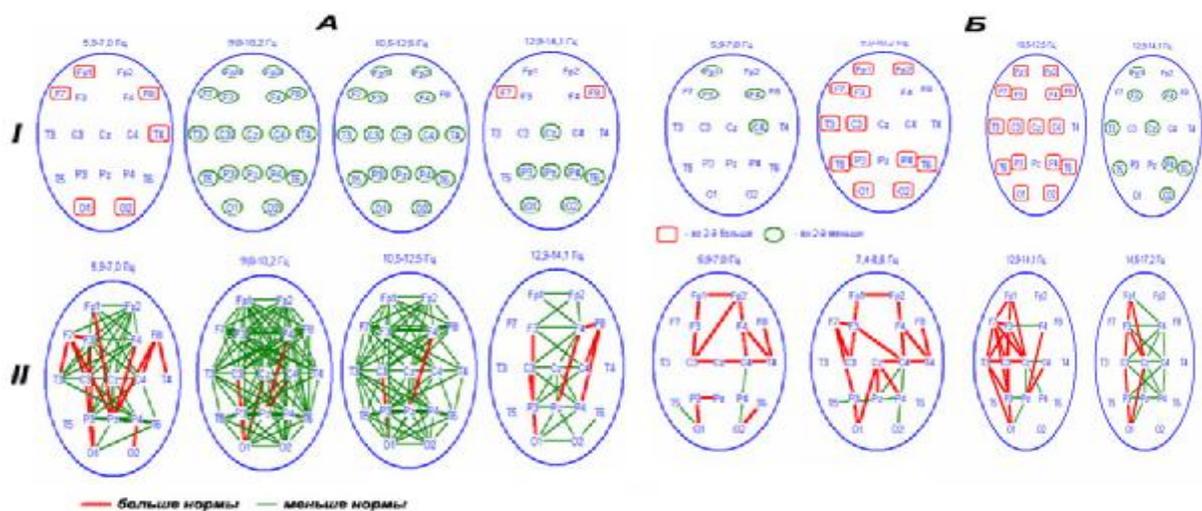


Рисунок 5. Статистически значимые ($p<0.05$) отличия от нормы показателей мощности (I) и когерентности ЭЭГ (II) у пациентов с посттравматическим синдромом ХН (N=18) в начале (А) и в конце исследования (Б).

В неврологическом статусе происходил регресс клинических симптомов ХН, в особенности регресс мышечной гипотонии ($p<0,05$), а также вегетативных нарушений ($p<0,01$). Наиболее стойкими были глазодвигательные нарушения, которые сохранялись даже после выхода пациентов в формально ясное сознание и статистически достоверных изменений не обнаруживали (рис.6).

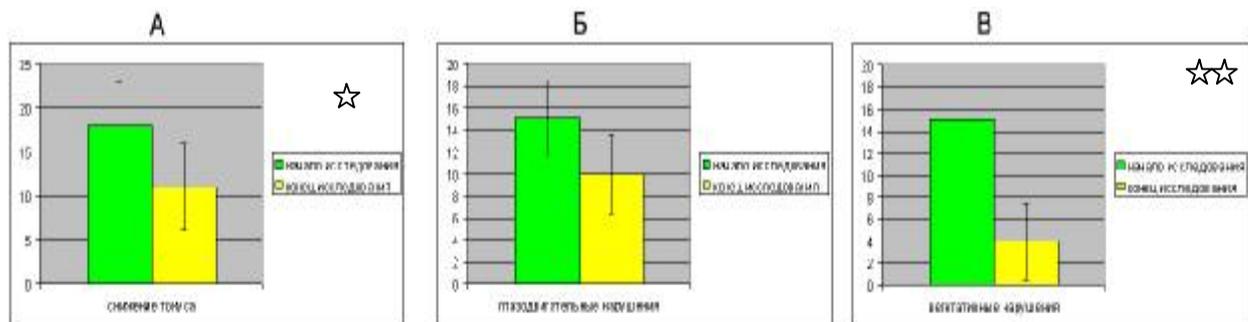


Рисунок 6. Динамика снижения мышечного тонуса (А), глазодвигательных нарушений (Б) и вегетативных нарушений (В) у пациентов с синдромом ХН в начале и в конце исследования.

Показано количество наблюдений по группе (*- $p<0,05$, ** - $p<0,01$).

При анализе исходного состояния установлено, что синдром ХН был более характерен для стадий от мутизма с пониманием речи до грубого когнитивного снижения, хотя в 13% наблюдений он выявлялся и в коме.

В процессе многомесячного наблюдения существенное (более 1 степени) повышение уровня сознания отмечалось в 75% , с выходом одного пациента в ясное сознание. В остальных случаях (25%) изменения происходили в пределах исходного уровня сознания.

У 18 пациентов в комплексной терапии был применен Ипидакрин. Это сопровождалось более быстрым, по сравнению с основной группой (N=19), регрессом всех клинических симптомов ХН (36 ± 7 и 42 ± 5 дней соответственно). Изменения паттерна ЭЭГ носили схожий характер с группой сравнения. Вместе с тем, характерным именно для приема Ипидакрина было диффузное нарастание мощности ЭЭГ по всему альфа-диапазону и усиление внутриполушарной

когерентности справа в альфа 1,2 диапазонах (на частоте от 8 до 10 Гц) - как в динамике, так и по сравнению с нормой, что может быть маркером препарата.

Полученные нами данные о влиянии Ипидакрина на состояние пациентов с ТЧМТ согласуются с полученными ранее [Жаворонкова Л.А., 2009] и уточняют их, т.к. ранее конкретные поддиапазоны альфа-активности не рассматривались.

При оценке исходов через год после ТЧМТ выявлено, что применение Ипидакрина достоверно уменьшало количество малообратимых бессознательных состояний.

Успешное использование направленной терапии нейротрансмиттерного действия может служить подтверждением того, что у пациентов с клиническими симптомами ХН и описанными выше сопутствующими особенностями ЭЭГ имеется снижение активности холинергической системы. Это согласуется с данными мировой литературы о важной роли холинергической системы в нарушениях психической деятельности, сознания и неврологических изменений у пациентов с ТЧМТ [Saija A., et al., 1988; Dixon C.E., et al., 1995; Dixon C.E., Liu B.G, Dixon C.E. et al., 1997; Schmidt R.H, Grady M.S., 1995; Selden N.R., et al., 1998; Arciniegas D., Silverd B., 2009; Bales J., et al., 2008].

Было проведено статистическое сравнение показателей мощности и когерентности ЭЭГ между группами пациентов с посттравматическими синдромами ДН (N=35) и ХН (N=37) в начале исследования (рис.7). Показано, что для пациентов с ХН характерны более высокие значения симметричной межполушарной когерентности альфа-активности ЭЭГ, а также ее мощности в центрально-теменно-затылочных корковых областях по сравнению с ДН. В то же время при ДН по сравнению с ХН диффузно повышена мощность дельта, бета и тета- составляющих - наряду с усилением ряда когерентных связей (чаще протяженных, межполушарных диагональных) по медленным (дельта, тета) ритмам. Выявленные статистические различия подчеркивают обоснованность выделения клинко-энцефалографических синдромов ДН и ХН в развитии травматической болезни головного мозга.

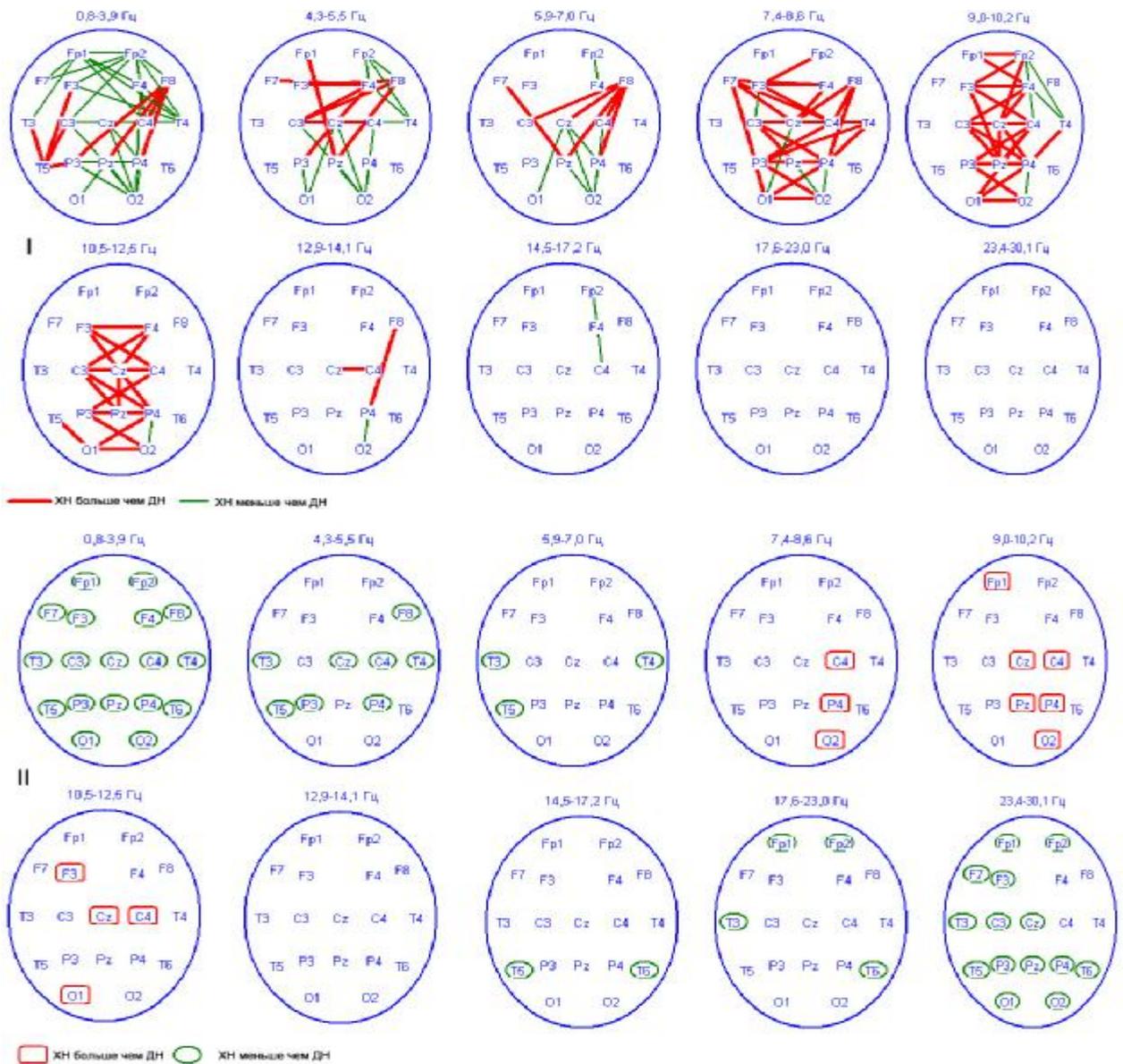


Рисунок 7 Показатели когерентности (I) и мощности ЭЭГ (II), значимо ($p < 0,05$) различающиеся между группами пациентов с посттравматическими синдромами ДН и ХН в начале исследования.

На фоне множественного характера структурного травматического повреждения головного мозга обследованных больных, результаты проведенной нами сравнительной оценки данных методов нейровизуализации позволяют ставить вопрос о значимости повреждения определенных морфологических структур (или их сочетания) для формирования синдромов ДН или ХН.

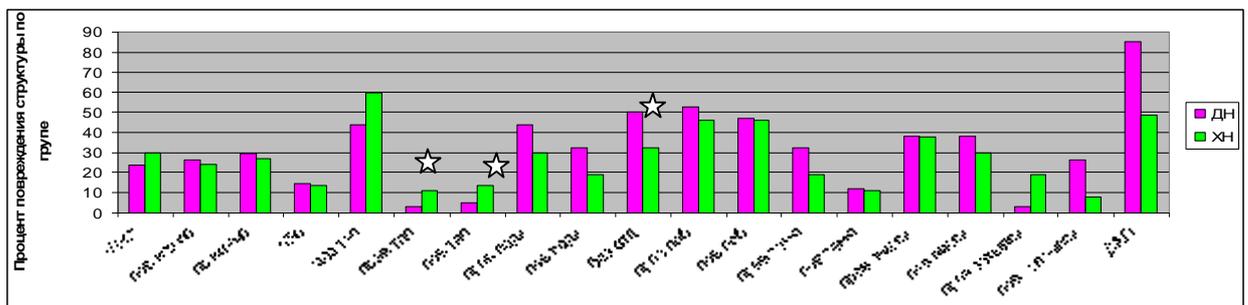


Рисунок 8. Распределение поражения мозговых структур (в процентах) по данным методов нейровизуализации в группах наблюдений с посттравматическими синдромами ДН и ХН (* $p < 0,05$).

Так, при посттравматическом синдроме ДН достоверно чаще были поражены базальные отделы полушарий. В литературе неоднократно подчеркивалась связь этих отделов с развитием патологий дофаминергической системы [Бобкова Н.В и соавт., 2006; Нестерова И.В. и соавт., 2008]. Также есть предположение, что в некоторых случаях, возможно, деятельность дофаминергической системы остается нормальной, за исключением части, расположенной в базальных отделах [Bales, Wagner, 2009]. В группе пациентов с посттравматическим синдромом ХН мы выявили ($p < 0,05$) более частое повреждение таламуса (рис 8).

Установлено, что позитивные изменения в сфере сознания (повышение показателей психической деятельности более чем на одну ступень) у пациентов с обоими синдромами сопряжены со статистически достоверными изменениями ряда показателей ЭЭГ: нормализацией межполушарных когерентных связей альфа-активности частотой 10,5-12,5 Гц в симметричных лобных областях, а также гиперсинхронизацией бета-активности частотой 17-23 Гц в левом полушарии (лобно-центральные, лобно-теменные и лобно-затылочные связи). Эти данные подтверждают и развивают сформулированные ранее представления о том, что показатели межполушарной (в первую очередь, лобной) когерентности ЭЭГ в наибольшей степени отражают степень угнетения сознания, его динамику и потенциал восстановления при ТЧМТ (Шарова Е.В, 1999; Шарова Е.В.с соавт., 2008; Гриндель О.М.с соавт., 2006), а также согласуются с данными фМРТ и ЭЭГ исследований последнего времени (Laureys S., 2011; Leon-Carrion J. et al, 2012).

Выводы

1. Сопоставление клинических данных с особенностями пространственной организации ЭЭГ при длительном нарушении сознания вследствие тяжелой черепно-мозговой травмы позволило выделить совокупности клинико-энцефалографических признаков дисфункции дофаминергической и холинергической систем мозга.
2. Установлено, что посттравматический синдром ДН более характерен для ранних стадий восстановления психической деятельности (вегетативный статус, акинетический мутизм, мутизм с пониманием речи), а синдром ХН – для более высоких уровней восстановления психической деятельности (дезинтеграция речи, амнестическая дезориентировка, грубая когнитивная недостаточность).
3. Клинической картине синдрома ДН сопутствуют изменения ЭЭГ в виде увеличения выраженности синхронизированной бета-активности частотой 13-14 Гц, достоверно усиленной в лобных и передне-височных областях с ЭДИ подкорковой, мозжечковой и лобно-базальной локализации, а также патологического усиления правополушарных когерентных связей тета и бета-активности.

4. Регресс синдрома ДН сопровождается учащением бета-активности ЭЭГ (от 13 до 16 Гц) и нормализацией ее мощности и когерентности - со стойким патологическим усилением правополушарных связей, особенно в затылочно-височных отделах.
5. Применение Амантадина ускоряет регресс синдрома ДН по сравнению с контрольной группой, достоверно не влияя на темпы восстановления психической деятельности.
6. Клинической картине синдрома ХН сопутствуют специфические особенности альфа-активности ЭЭГ: замедление, асимметричность, ЭДИ стволовой и гиппокампальной локализации, стойкое усиление внутрислоушарных когерентных связей, особенно слева.
7. Регресс синдрома ХН сопровождается нарастанием регулярности, мощности и частоты альфа-активности (от 7-8 до 9-10 Гц), преобладанием ЭДИ в гиппокампе с появлением их в затылочных отделах полушарий, нормализацией правополушарных когерентных связей с сохранением их патологически высоких значений слева.
8. Применение Ипидакрина значительно ускоряет регресс синдрома ХН, особенно при наиболее тяжелой его форме, а также достоверно улучшает восстановление психической деятельности.
9. Значимое повышение уровня сознания, как при ХН, так и при ДН сопровождается нормализацией связей в симметричных лобных отделах в альфа3-диапазоне (10,5-12,5 Гц), а также усилением когерентных связей бета-активности частотой 17,5-23 Гц, чаще в левом полушарии мозга.

Список публикация по теме диссертации

1. Челябинна М.В. Зайцев О.С., Шарова Е.В., Клинические и электроэнцефалографические эффекты сульфата амантадина (ПК-Мерц) на фоне угнетенного сознания вследствие тяжелой травмы головного мозга. Журнал неврологии и психиатрии им.С.С. Корсакова - 2011.-N 5.-С.24-29.
2. Зайцев О.С., Захарова Н.Е., Потапов А.А., Шарова Е.В., Александрова Е.В., Максакова О.А., Челябинна М.В. Комплексная реабилитация пострадавших с психическими расстройствами вследствие тяжелой черепно-мозговой травмы Неврологический вестник - 2009.-N 4.-С.18-21.
3. Зайцев О.С., Челябинна М.В., Гриненко О.А., Александрова Е.В, Охлопков В.А. и др. Оптимизация психофармакотерапии после тяжелой черепно-мозговой травмы. Доктор.Ру - 2011 - №4 (63). - С. 60-63.
4. Челябинна М.В., Шарова Е.В., Зайцев О.С. Эффекты Ипидакрина («Нейромидин») в паратрах ЭЭГ при тяжелой травме мозга. ж. Успехи современного естествознания. Издательский дом «Академия естествознания» 2008 - №1. – С. 26-27.

5. Челябинна М.В., Шарова Е.В., Зайцев О.С., Коротаева М.В., Лифшиц М.Ю
Сравнительный анализ влияния ипидакрина и пиридоксина на функциональную
активность мозга здорового человека (двойное слепое исследование на двух испытуемых)
// Журнал асимметрия. – 2008 - т.2. - №1. С. 55-62.
6. Шарова Е.В., Зайцев О.С., Куликов М.А., Щепетков А.Н., Коробкова Е.В., Челябинна М.В.
Функциональные и структурные предпосылки угнетения сознания при тяжелой черепно-
мозговой травме. // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2012. – Т.7. – №1-2. –
С.68-75
7. Челябинна М.В. ЭЭГ- корреляты активации дофаминергической системы под влиянием
Амантадина (ПК-мерц) у больных тяжелой черепно-мозговой травмой. //Тезисы XII
Конференция молодых ученых ИВНД и НФ РАН. Москва, 2008 . С. 7.
8. Челябинна М.В. Клинико-ЭЭГ анализ эффектов Амантадина (ПК-мерц) на фоне
специфических когнитивных и двигательных нарушений при тяжелой травме мозга.
//Тезисы научной конференции Лаборатории психофизиологии и лаборатории общей и
клинической нейрофизиологии ИВНД и НФ РАН. Москва 2009.
9. Челябинна М.В., Шарова Е.В., Зайцев О.С. ЭЭГ-корреляты активации дофаминергической
системы под влиянием амантадина (ПК-Мерц) у больных с тяжелой черепно-мозговой
травмой.//Тезисы Всероссийской Конференция с международным участием “Актуальные
вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности” Москва,
2008. С. 776-780.
10. Зайцев О.С., Шарова Е.В., Захарова Н.Е., Александрова Е.В., Окнина Л.Б., Романова Н.В.,
Тенедиева В.Д., Ураков С.В., Челябинна М.В., Шухрай В.А. Нейропсихиатрический анализ
проблемы реинтеграции сознания после тяжелой травмы мозга // Материалы
общероссийской конференции «Взаимодействие специалистов в оказании помощи при
психических расстройствах». Москва, 27-30 октября 2009.
11. Челябинна М.В, Шарова Е.В., Зайцев О.С. Клинико-ЭЭГ анализ эффектов Амантадина
(ПК-мерц) у больных тяжелой черепно-мозговой травмой// Тезисы II Всероссийской
научно-практической конференции «Количественная ЭЭГ и нейротерапия», Санкт-
Петербург, 2009. с. 48.
12. Зайцев О.С. Потапов А.А. Шарова Е.В. Корниенко В.Н. Захарова Е.Н. Тенедиева В.Д.
Александрова Е.В. Кравчук А.Д. Гаврилов А.Г. Охлопков В.А. Соколова Е.Ю. Челябинна
М.В. Психические нарушения у пострадавших с травматическим поражением глубоких
структур мозга.// Материалы Всезда нейрохирургов России, Уфа 2009, С 38-39.

13. Зайцев О.С., Потапов А.А., Захарова Н.Е., Парфенов А.Л., Александрова Е.В., Шарова Е.В., Челяпина М.В. Восстановление психической деятельности после затяжного посттравматического вегетативного состояния. // Всероссийская научно-практическая конференция «Инновационные технологии реабилитации инвалидов в Российской Федерации». – 25-26 ноября. – 2009. – Казань. – С.76-79.
14. Zaitsev O., Potapov A., Zakharova N., Kornienko V., Sharova E., Chelyapina M., Alexandrova E., Tenedieva V., Kravchuk A., Okhlopov V., Shakhnovich V., Kudrjavitsev I. Recovery of consciousness in patients with traumatic damage to the brainstem and subcortical structures. // ICRAN-2010. Neurotrauma: basic and applied aspects. Book of abstracts. – June 29 – July 1, 2010. – P.41-42.
15. Sharova E., Oknina L., Boldyreva G., Pronin I., Zakharova N., Zaitsev O., Schekutiev G., Chelyapina M. Neurophysiological markers of mental recovery after TBI. // ICRAN-2010. Neurotrauma: basic and applied aspects. Book of abstracts. – June 29 – July 1, 2010. – P.39-40.
16. Челяпина М.В., Шарова Е.В. д.б.н., Зайцев О.С. д.м.н. Нейрофизиологический контроль медикаментозной коррекции клинических симптомов дофаминэргической и холинэргической недостаточности в процессе восстановления сознания у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой. // Материалы XIX Международной Конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» 2011, Гурзуф-Украина
17. Челяпина М.В. Зайцев О.С. Шарова Е.В. Синдромы дофаминэргической и холинэргической недостаточности в процессе восстановления сознания после тяжелой травмы мозга:клинико нейрофизиологический анализ.//Материалы III международной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты восстановления сознания после травмы мозга: междисциплинарный подход». Москва 2012. С 18.
18. Зайцев О.С. Александрова Е.В. Челяпина М.В. Гриненко О.А. Психофармакотерапия в нейрореабилитации. // Материалы Международной научно-практической конференции по нейрореабилитации в нейрохирургии. Казань 2012 С. – 105-106.
19. Sharova E., Zaitsev O., Oknina L., Zakharova N., Chelyapina M. EEG and ERP markers of mental recovery after TBI. // The Ninth World Congress on Brain Injury (Edindurg, Scotland, March 2012).– 2012. – P.208.