

ГУЛИЕВА МАЙЯ ШОХЛАТОВНА

**СЫВОРОТОЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ (NSE, БЕЛОК P53 И BDNF) В ОЦЕНКЕ
ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА**

3.1.24. Нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель

Доктор медицинских наук, профессор

Чуканова Елена Игоревна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Воробьева Ольга Владимировна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра нервных болезней Института профессионального образования, профессор кафедры

Доктор медицинских наук, профессор

Исакова Елена Валентиновна

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», кафедра неврологии факультета усовершенствования врачей, профессор кафедры, ведущий научный сотрудник неврологического отделения

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2021 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.05 (Д 208.072.09) на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им.Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; и на сайте: www.rsmu.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Боголепова Анна Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Нарушения мозгового кровообращения представляют собой серьезную медико-социальную проблему. Наравне с инфарктом миокарда и онкологическими заболеваниями инсульт можно назвать эпидемией 21 века. Он занимает второе место по смертности после ишемической болезни сердца и является одной из ведущих причин инвалидизации пациентов [Гусев Е.И. и соавт., 2015; Скворцова В.И., 2018; Feigin V.L., 2017; Стаховская Л.В., Исакова Е.В., 2014]. За последние два десятилетия улучшения в системе лечения острого инсульта привели к снижению уровня смертности от заболевания, однако увеличение выживаемости приводит к увеличению доли пациентов, живущих с постинсультными нарушениями и нуждающихся в длительном уходе и реабилитации [Боголепова А.Н., 2019; Исакова Е.В., 2015; Воробьева О.В., 2014].

Наиболее тяжелыми при инсульте являются его последствия. По данным исследований около 10% пациентов, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, оказываются сравнительно легкими, в остальных случаях у выживших больных в той или иной степени сохраняется выраженный неврологический дефицит, зачастую приводящий к стойкой инвалидизации. Медико-социальный ущерб при острых нарушениях мозгового кровообращения обусловлен случаями преждевременной смерти, потерей трудоспособности, значительными экономическими потерями для общества, связанными с необходимостью длительной реабилитации больных, повышением рисков развития осложнений, в том числе деменций [Боголепова А.Н., 2019]. Проблема инсульта распространяется не только на самого пациента, но и на всю его семью, что связано с необходимостью постоянного ухода за тяжелыми пациентами.

Наиболее распространенной формой инсульта является ишемический тип, который составляет до 80% всех случаев [Стулин И.Д., 2008]. Ишемический инсульт представляет собой гетерогенное заболевание, диагностика которого должна строиться на системном подходе. В первые сутки заболевания ни один из используемых в настоящее время методов не может с высокой точностью верифицировать острую ишемию головного мозга. Диагностирование острой ишемии включает в себя изучение анамнеза данной острой патологии с выделением факторов риска развития заболевания, определение соматического и неврологического статуса, инструментальных, лабораторных и нейровизуализационных методов исследования.

С учетом распространенности и разнообразия клинических проявлений ишемического инсульта перспективным направлением является разработка прогностических критериев оценки степени тяжести данной патологии, возможного восстановления утраченных функций и определения степени риска

развития повторной ишемии мозга. Прогнозирование дальнейшего течения и исхода ишемического инсульта является важным для врачей, пациентов и исследователей. Несмотря на большое количество проведенных работ, посвященных этому направлению, данная проблема до сих пор остается актуальной [Чуканова Е.И., 2020].

В последние годы все более востребованной становится методика определения концентрации сывороточных биомаркеров, способных дать практикующим неврологам возможность диагностировать и прогнозировать течение развития острой ишемии головного мозга [Makris K., 2018; Чуканова Е.И., 2020]. Применение панели определенных биомаркеров, отражающих сложные взаимодействия биохимических и патофизиологических процессов, происходящих при ишемическом инсульте, может дать более точную информацию о степени выраженности повреждения мозга, определить репаративные возможности пациента, что позволит прогнозировать исход ишемического инсульта в ранние сроки течения заболевания и осуществлять наиболее эффективную тактику лечения пациента.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время для диагностики и прогнозирования течения инсульта делаются попытки определения изменений концентрации тех или иных сывороточных биомаркеров: маркеров воспалительного каскада, факторов гемостаза, маркеров, специфичных для повреждения глиальных клеток и нейрональной ткани [Кадырова И.А., 2015]. При этом выводы, вытекающие из многочисленных научных статей, мета-анализов и обзоров, опубликованных за последние 10 лет в этой области, значительно различаются, что приводит к расхождению во мнениях об эффективности клинического применения биомаркеров при инсульте [Lansberg M.G., 2001; Whiteley W., 2008; Laskowitz D.T., 2009; Jickling G.C., 2011; Rothstein L., 2013; Rudkin S., 2018]. Однако все это может быть объяснено гетерогенностью патофизиологических и биохимических моментов развития инсульта, локализацией и объемом очагов повреждения мозговой ткани, а также отсутствием работ комплексного исследования различных биомаркеров. В связи с этим в последние годы делаются попытки создания панели биомаркеров, способной отразить различные патофизиологические и патобиохимические изменения, происходящие в мозге в каждом конкретном случае [Lansberg M.G., 2001; Laskowitz D.T., 2009; Rothstein L., 2013; Luo W., 2019], что способствовало бы возможности прогнозирования исхода развития ишемического инсульта и разработке индивидуальной программы лечения.

Особый интерес вызывают сывороточные биомаркеры, определяющие характерные особенности функционирования нервной системы и протекания

биохимических процессов в мозге (интенсивность, направление, локализацию), что позволило бы оценить выраженность повреждения центральной нервной системы и репаративные возможности головного мозга [Чуканова Е.И., 2020; Saver J.L., 2012; Barbieri A., 2013].

В литературе среди работ, посвященных исследованию различных биомаркеров [Wunderlich M.T., 1999; Lansberg M.G., 2001; Laskowitz D.T., 2009; Rothstein L., 2013; Luo W., 2019] комплексного исследования сывороточных биомаркеров, включающего в себя определение маркеров повреждения нейрональной ткани, апоптоза и нейротрофичности (NSE, белок p53, BDNF) в сопоставлении с клинико-нейровизуализационными данными в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта, ранее не проводилось.

Цель исследования

Выявить связи между клинико-нейровизуализационными данными и содержанием сывороточных биомаркеров (маркера повреждения – NSE, апоптоза – белка p53 и нейропластичности – BDNF) в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

Задачи исследования

1. Определить наличие корреляционной зависимости между выраженностью неврологического дефицита и показателями сывороточных биомаркеров (нейротрофическим фактором головного мозга, нейроспецифической енолазой и маркером апоптоза p53) в остром периоде ишемического инсульта.

2. Определить наличие корреляционной зависимости между выраженностью неврологического дефицита и показателями сывороточных биомаркеров (нейротрофическим фактором головного мозга, нейроспецифической енолазой и маркером апоптоза p53) в раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

3. Определить наличие корреляционной связи между количественным содержанием маркеров повреждения, апоптоза и нейропластичности (BDNF, NSE, белок p53) в сыворотке крови у больных с ишемическим инсультом и размером очага поражения в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

4. Выявить тенденции динамики выбранных биомаркеров характерных для благоприятного и неблагоприятного течения ишемического инсульта в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

Научная новизна исследования

Впервые в нашем исследовании была проведена оценка панели сывороточных биомаркеров, содержащей маркеры повреждения, апоптоза и

нейропластичности в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта. В работе показана динамика уровня сывороточных биомаркеров, отражающих основные звенья патогенеза ишемического инсульта, в остром, раннем и позднем восстановительном периодах при разном течении заболевания.

Доказана значимость динамики уровня BDNF и NSE в сыворотке крови на 10-е сутки ишемического инсульта как предикторов течения заболевания: низкие показатели BDNF и высокие цифры NSE на 10-е сутки коррелировали в последующем с неблагоприятным течением заболевания.

Показана взаимосвязь панели сывороточных биомаркеров, включающей маркеры повреждения (NSE), апоптоза (белок p53) и нейропластичности (BDNF), с объемом инфаркта головного мозга в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

Теоретическая и практическая значимость работы

Материалы исследования позволили оценить связь клинико-нейровизуализационных данных с показателями лабораторных исследований сывороточных уровней содержания NSE, белка p53, BDNF, отражающих основные звенья патогенеза повреждения паренхимы мозга (некроза – NSE, апоптоза – белок p53, нейропластичности – BDNF).

Показана информативность не столько количественного определения уровня сывороточных маркеров на 1-е сутки заболевания с целью оценки их прогностического значения, сколько динамика этих показателей и комплексность определения, что оказалось более информативной и динамической единицей. Было показано, что прогностически благоприятным являлось увеличение уровня BDNF в остром периоде инсульта в сочетании с низкими цифрами NSE, без существенной динамики к нарастанию.

Учитывая полученные данные динамического анализа сывороточных маркеров (NSE, BDNF, белок p53), можно говорить о возможности их использования в качестве дополнительных критериев объективизации тяжести состояния и прогнозирования течения инсульта, что позволит определить объем лечебных мероприятий, подходы к патогенетической терапии и контролировать эффективность проводимой терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с ишемическим инсультом выявлялась прямая достоверная зависимость между высоким уровнем нейроспецифической енолазы в сыворотке крови и выраженностью неврологического дефицита в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта.

2. На 10-е сутки ишемического инсульта определялись высокие значения уровня BDNF у пациентов с легким неврологическим дефицитом, выявленным по балльной оценке шкалы NIHSS, и полной независимостью по индексу Бартел.

3. У пациентов в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта выявлена прямая достоверная зависимость между высокими уровнями сывороточного белка p53 и нейроспецифической енолазы и большими объемами повреждения ткани мозга.

4. Установлено, что снижение уровня NSE в сыворотке крови в раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта свидетельствует об уменьшении размеров инфаркта головного мозга.

5. Показана прогностическая роль динамики уровня показателей BDNF и NSE в сыворотке крови в остром периоде ишемического инсульта как предикторов течения заболевания.

Степень достоверности результатов исследования

Степень достоверности проведенного исследования определяется репрезентативным объемом выборки обследованных пациентов, применением объективных и современных методов исследования, сроками наблюдения и корректными методами статистики. Научные положения, рекомендации и выводы, сформулированные в диссертации, логически вытекают из системного анализа результатов выполненных исследований.

Внедрение полученных результатов работы в практику

Результаты исследования внедрены в работу нейрореанимационного и 12 неврологического отделений ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова, а также в процесс лекционного и практического обучения ординаторов, аспирантов слушателей на кафедре неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Методология и методы исследования

Методология исследования включала клинико-неврологическое, лабораторное и нейровизуализационное исследование пациентов, перенесших ишемический инсульт. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор пациентов и статистическая обработка результатов).

Апробация работы

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на заседании кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 102 от 25.05.2021 года). Диссертация выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ литературы по проблеме диссертации, сформулированы цель и задачи исследования. Лично производился отбор пациентов, отвечающих критериям включения и исключения из исследования. Автор самостоятельно проводил детальное неврологическое обследование пациентов с использованием клинических шкал: шкалы инсульта Национального института здоровья (NIHSS), европейской шкалы инсульта для оценки двигательного дефицита (ESS), индекса повседневной активности Бартел, шкалы Рэнкина для оценки исходов инсульта и шкалы оценки качества жизни при инсульте SS-QOL.

Лично проанализированы магнитно-резонансные изображения головного мозга пациентов. Лабораторное исследование сыворотки выполнялось на базе ФГБНУ «Научный центр психического здоровья». Мы выражаем глубокую признательность за помощь при выполнении диссертационного исследования зав. лабораторией молекулярной биохимии, ведущему ученому в области психиатрической науки, д.м.н., профессору Ключник Т.П., руководителю лаборатории доказательной медицины и биостатистики, к.б.н. Симонову А.Н., старшему научному сотруднику Отман И.Н., научному сотруднику Зозуля С.А.

Автором самостоятельно выполнен статистический анализ полученных результатов, сформулирована научная новизна, выводы и практические рекомендации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

В соответствии с формулой специальности 14.01.11 «Нервные болезни», охватывающей вопросы этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики заболеваний нервной системы, в работе представлены клинко-лабораторно-нейровизуализационные особенности течения ишемического инсульта в остром, раннем и позднем восстановительном периодах, что соответствует пункту 3 «Сосудистые заболевания нервной системы».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 130 страницах, включает введение, обзор литературы, описание материала и методов, три подглавы полученных результатов, главу заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы и клинические примеры. В списке литературы представлено 362 источника (68 отечественных и 294 зарубежных). Диссертация содержит 26 таблиц и 14 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал исследования

Исследование проводилось на базе регионального сосудистого центра, а также отделения для лечения больных с острым нарушением мозгового кровообращения ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова в период с 2016 по 2019 год.

В исследование включались пациенты в остром периоде ишемического инсульта с компенсированной сопутствующей соматической (сердечно-сосудистой, почечной, печеночной, эндокринной (изолированная гипергликемия натощак, нарушение толерантности к глюкозе)) патологией.

Для набора пациентов использовались критерии включения и исключения из исследования. Все пациенты включались в исследование на 1-е сутки ишемического инсульта.

Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины в возрасте от 46 до 75 лет; первичный полушарный ишемический инсульт, подтвержденный данными нейровизуализационных методов исследования (КТ, МРТ головного мозга); атеротромботический и кардиоэмболический инсульты; добровольное подписание информированного согласия.

Критерии невключения пациентов в исследование: наличие инсульта в анамнезе; геморрагический инсульт либо спонтанное субарахноидальное кровоизлияние; проведенный тромболизис или тромбоэкстракция при поступлении; инсульт в вертебрально-базиллярном бассейне; лакунарный инсульт; инсульт другой уточненной этиологии; инсульт неуточненной этиологии; наличие тяжелой сопутствующей патологии: онкологические заболевания в анамнезе, аутоиммунные и инфекционные заболевания, эндокринные заболевания (диагностированный ранее сахарный диабет 1 и 2 типа, аутоиммунный тиреоидит, эндемический зоб щитовидной железы и т.д.), повышение уровня печеночных трансаминаз, креатинина и мочевины более чем в 1,5 раза; наличие абсолютных противопоказаний к проведению МРТ-исследования (наличие кардиостимулятора, гемостатических клипс, превышение веса пациента порогового значения (более 120 кг)); пациенты с полным регрессом неврологической симптоматики в течение первых 24 часов с момента развития заболевания; отказ пациента от подписания информированного согласия.

Критерии исключения из исследования: возникновение любого из состояний, входящих в критерии невключения; нарушение протокола исследования; по просьбе больного или его родственников.

Изначально в исследование было включено 80 пациентов в возрасте от 49 до 75 лет. В ходе дальнейшего обследования у 32-х пациентов были выявлены состояния, входящие в список критериев невключения и исключения из исследования, в связи с чем мы были вынуждены исключить их из исследования:

у 13 пациентов были диагностированы позднее развившиеся сопутствующие заболевания (впервые диагностирован сахарный диабет 2 типа); 19 пациентов не могли продолжить исследование по причинам, не связанным со здоровьем и настоящим заболеванием (семейные, финансовые обстоятельства). Полное обследование согласно протоколу исследования прошли 48 человек.

Все пациенты исследования были стандартизированы по МЭС по оказанию медицинской помощи больным с ишемическим инсультом.

В контрольную группу (сравнения по сывороточным биомаркерам) были включены 20 пациентов с хронической цереброваскулярной недостаточностью (хронической ишемией мозга), сопоставимые с группой исследования по полу и возрасту.

Было обследовано 36 (45%) мужчин и 44 (55%) женщин. Средний возраст составил $61,3 \pm 6,7$ лет: у мужчин – $58,5 \pm 5,4$ (49 – 66 лет), у женщин – $63,6 \pm 6,8$ (51 – 75 лет).

По критериям TOAST атеротромботический подтип инсульта диагностировался у 50 пациентов (62,5%), кардиоэмболический – у 30 (37,5%).

Наиболее распространенными факторами риска были артериальная гипертония (100%), атеросклероз сосудов головного мозга в 82,5% случаев, в том числе пациенты с гемодинамически незначимым стенозом – менее 70%. Семейный анамнез по наличию сердечно-сосудистых заболеваний был отягощен у 28-ми пациентов (35%).

Методы исследования

При поступлении у пациентов в 1-е сутки заболевания оценивался соматический и неврологический статус, изучался анамнез заболевания, анамнез жизни.

Для стандартизации результатов оценки неврологического статуса использовались шкала инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale – NIHSS) и шкала оценки двигательного дефицита – европейской шкале инсульта (ESS). По мере стабилизации состояния пациентов (на 10-е сутки инсульта, в 6 и 12 месяцев с момента развития симптомов заболевания) дополнительно применялись шкалы для оценки нарушения жизнедеятельности больных, возникающих в результате заболевания: индекс Бартел, шкала Рэнкина и SS-QOL.

Для исключения тяжелой соматической патологии проводились лабораторные методы исследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови (общий белок, мочевины, креатинин, АЛТ, АСТ, общий билирубин, глюкоза, липидограмма), коагулограмма крови (ПТВ, ПТИ, фибриноген). Для определения степени выраженности стеноза экстракраниальных сосудов и окклюзии каротидных артерий выполнялось ультразвуковое дуплексное

рассчитывали средние арифметические значения (M), стандартные отклонения (SD), медианы (Me) и квартили (LQ; UQ). Сравнение качественных показателей проводилось с помощью критерия χ^2 . Сравнительный анализ двух независимых групп по количественному признаку выполнялся с помощью U-критерия Манна-Уитни, либо критерия Крускала-Уоллиса (для 3 и более групп). Сравнение частот качественных признаков в двух и более группах проводили с помощью точного критерия Фишера. В зависимых выборках значения сравнивали с помощью критерия Фридмана. Анализ взаимосвязи двух порядковых признаков проводили с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Различия в группах считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка степени тяжести неврологического дефицита проводилась по шкале инсульта Национального института здоровья и европейской шкале инсульта. Медиана по шкале NIHSS в 1-е сутки заболевания составила 11,5 [9;14] баллов, по шкале ESS – 45 [39; 64] баллов.

При анализе неврологической симптоматики у пациентов с ОНМК общемозговые симптомы (в виде диффузной головной боли) определялись у 53 пациентов (66,25%), менингеальные – у 13 (16,25%), двигательные нарушения выявлялись у 73-х пациентов (91,25%), чувствительные (гемигипестезия) – у 67 (83,75%), речевые – у 53 (66,25%), зрительные (гомимная гемианопсия) – у 33 (41,25%), глазодвигательные (корковый парез взора) – у 43 (53,75%), синдром игнорирования и тазовые нарушения – у 6 пациентов (7,5%).

В структуре речевых нарушений у пациентов чаще наблюдалась сенсомоторная афазия среднетяжелой и тяжелой степени выраженности (86,96%); из двигательных нарушений – гемипарез до 3-х баллов в руке (45,2%) и до 1-2 баллов в ноге (50,6%).

При динамическом наблюдении за пациентами в течение года после выписки из стационара положительная динамика отмечалась у 34 пациентов (70,83%), отрицательная динамика – у 10 пациентов (20,83%), без динамики было 4 пациента (8,34%).

Данные по неврологическим шкалам, полученные в группе пациентов с положительной динамикой, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Балльная оценка по шкалам NIHSS, ESS, SS-QOL, Рэнкина и индекса Бартел за год наблюдения у пациентов с ишемическим инсультом в группе с положительной динамикой.

Неврологические шкалы	1 сутки, n=34	10 сутки, n=34	6 месяцев, n=18	12 месяцев, n=28
NIHSS	10 [8; 12]	8 [4; 9]	3 [1; 6]	3,5 [2; 4]

ESS	63 [45; 67]	68 [58; 85]	90 [78; 96]	89 [74; 92]
Индекс Бартел	–	85 [40; 100]	100 [90; 100]	100 [95; 100]
SS-QOL	–	–	211 [173; 228]	198 [189; 227]
Шкала Рэнкина	–	3 [2; 3]	2 [1; 2]	2 [1; 2]

В группе больных с изначально отрицательной динамикой умерли все 10 пациентов: 4 (40%) – в остром периоде ишемического инсульта (вследствие развития осложнений инсульта), 6 (60%) – в раннем восстановительном периоде (в результате развития повторного инсульта с развитием вторично-стволового синдрома). Медиана балльной оценки неврологических шкал в данной группе составила: в 1-е сутки заболевания: по шкале NIHSS – 16 [11; 16] баллов, по шкале ESS – 39 [39; 42] баллов; на 10-е сутки заболевания: по шкале NIHSS – 16 [14; 22] баллов, по шкале ESS – 32 [18; 32] балла, по индексу Бартел – 0 [0; 20] баллов, по шкале Рэнкина – 5 [5; 5] баллов.

В 3-ей группе, представленной 4 пациентами (8,33%), неврологический дефицит был без значимой положительной динамики. Медиана балльной оценки по шкале NIHSS на 12-м месяце наблюдения составила 17,5 [16,5; 18,5] баллов, по шкале ESS – 32 [30,5; 35,5] балла, по индексу Бартел – 25 [22,5; 27,5] баллов, по шкале Рэнкина – 4 [4; 4] балла, по шкале SS-QOL – 94 [86; 108] балла.

Анализ полученных данных по сывороточным биомаркерам

Полученные данные по количественному определению уровня NSE, BDNF и белка p53 в сыворотке крови у пациентов основной группы с ишемическим инсультом сравнивались с данными лабораторных показателей пациентов контрольной группы, которую составили пациенты с хронической ишемией головного мозга, сопоставимых с группой исследования по возрасту и полу.

В результате анализа было установлено достоверное повышение уровня NSE в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом во всех точках наблюдения по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$), что указывает на выраженные процессы гибели нейронов, которые вместе с нарушением гематоэнцефалического барьера приводят к активному выходу NSE в кровь.

По абсолютным показателям у пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения лабораторно определялись более высокие показатели белка p53, что, однако не имело статистически достоверного различия ($p > 0,05$).

Выявлена статистически значимая разница между уровнем BDNF основной и контрольной группы в 1-е сутки ишемического инсульта. Более высокие показатели уровня BDNF определены в группе пациентов с длительным

анамнезом течения хронической ишемии головного мозга и с ее более выраженной степенью тяжести, что, вероятнее всего, связано с отсроченной активацией защитных нейротрофических механизмов у пациентов при острой локальной ишемии мозга. Установлено статистически значимое повышение уровня BDNF в основной группе пациентов в позднем восстановительном периоде ишемического инсульта, что может быть обусловлено продолжающимися у данных пациентов активными процессами восстановления.

По данным нашего исследования значимых корреляционных связей между уровнем сывороточных биомаркеров и факторами риска развития инсульта отмечено не было.

При оценке влияния возраста на уровень NSE, BDNF и белка p53 были получены следующие результаты, подробно представленные в таблице 2.

Таблица 2. Уровень сывороточных биомаркеров в разных возрастных группах.

Сывороточные маркеры		Возрастной диапазон		
		46-55 лет, n=8	56-65 лет, n=30	66-75 лет, n=10
1-е сутки	BDNF (пг/мл)	16767,75 [15238;18297,5]	19203 [9291;27698]	6080 [4816;12494,5]
	p53 (е/мл)	10,04 [0;10,04]	2,80 [0;19,3]	0 [0;0]
	NSE (мкг/л)	2,43 [2,02;2,73]	3,04 [1,07;4,8]	3,60 [2,29;4,8]
10-е сутки	BDNF (пг/мл)	20422,75 [19515;21239,5]	23130 [18700;24632]	18228 [18228;28590]
	p53 (е/мл)	89 [81,3;94,5]	0 [0;7,49]	0 [0;0]
	NSE (мкг/л)	3,05 [2,43;3,25]	6,7 [3,14;8,54]	3,25 [2,33;5,8]

По данным проведенного анализа отмечено, что во всех возрастных группах на протяжении первых 10 дней заболевания происходит увеличение уровня нейротрофического фактора головного мозга, что говорит о повышении активности компенсаторных защитных механизмов восстановления, как реакции на повреждение. Однако в более старшей возрастной группе пациентов (старше 65 лет) отмечены более низкие уровни увеличения показателей BDNF, что может говорить о сниженных возможностях нейрогенеза. Уровень же NSE и белка p53 во всех возрастных группах был преимущественно обусловлен выраженностью объема повреждения ткани головного мозга.

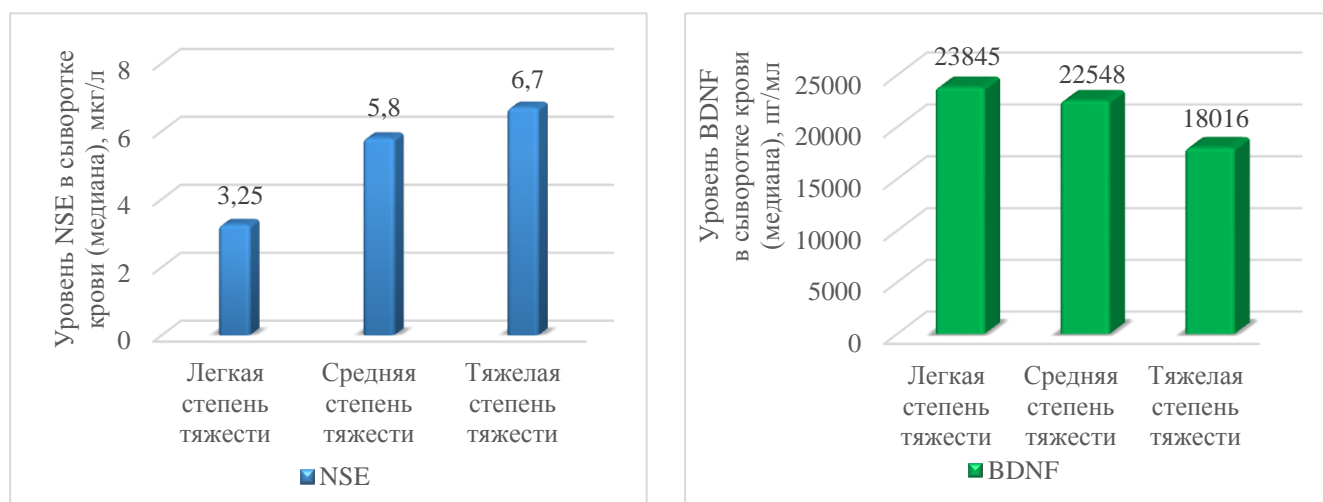
Между группами больных с разным типом ишемического инсульта (атеротромботическим и кардиоэмболическим) достоверной разницы в показателях сывороточных биомаркеров показано не было.

Анализ корреляционной связи между сывороточными маркерами и данными клинических неврологических шкал в остром периоде ишемического инсульта

По данным анализа установлена взаимосвязь между высоким уровнем нейроспецифической енолазы в сыворотке крови и тяжестью неврологического дефицита в остром периоде инсульта. Показана значимая корреляционная связь уровня NSE в сыворотке крови на 1-е сутки заболевания с балльной оценкой по шкале NIHSS ($r=0,458$, $p<0,01$); на 10-е сутки – с NIHSS ($r=0,746$, $p<0,01$); ESS ($r=-0,755$, $p<0,05$), индексом Бартел ($r=-0,709$, $p<0,01$), шкалой Рэнкина ($r=0,759$, $p<0,05$).

Установлена слабая обратная корреляционная зависимость между уровнем BDNF на 10-е сутки ишемического инсульта и степенью тяжести неврологического дефицита, оцениваемого по шкале NIHSS ($r=-0,443$, $p<0,01$), и уровнем потери трудоспособности, по данным индекса Бартел ($r=0,397$, $p<0,01$).

Данные по анализу связи между степенью тяжести неврологического дефицита и уровнем BDNF и NSE в сыворотке крови представлены на рисунках 1



и 2.

Рисунок 1. Количественное определение уровня BDNF и NSE на 10-е сутки ишемического инсульта при разной степени тяжести состояния, оцениваемой по шкале NIHSS

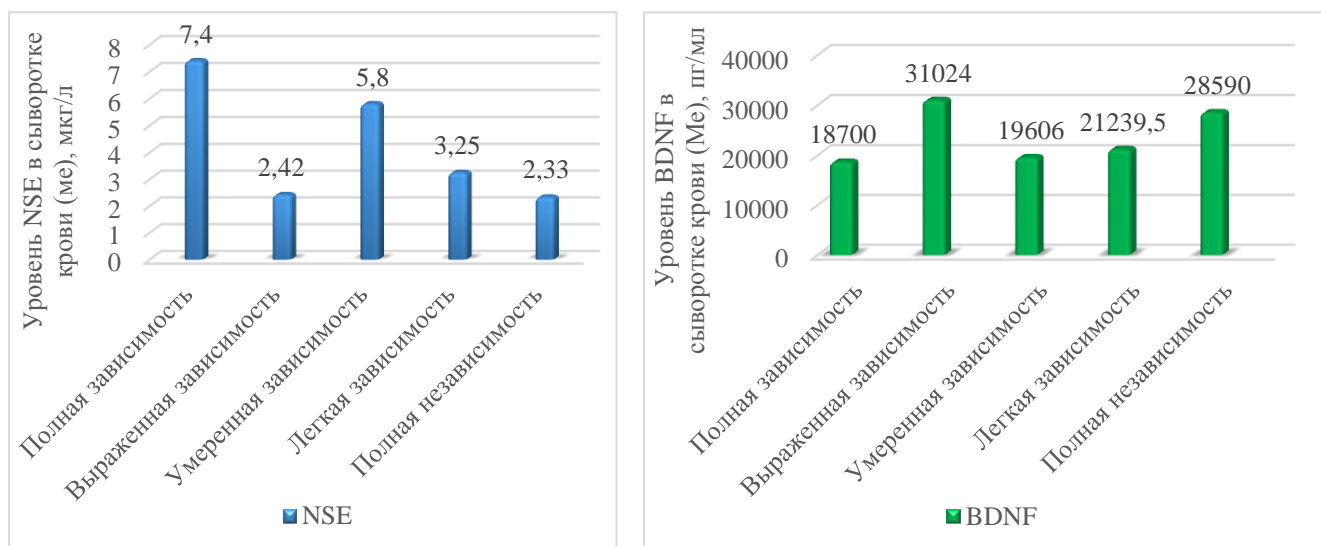


Рисунок 2. Определение взаимосвязи между содержанием BDNF и NSE в сыворотке крови и функциональным исходом, определяемый по индексу Бартел на 10-е сутки ишемического инсульта

По данным рисунков видно, что на 10-е сутки ишемического инсульта высокие показатели NSE определяются у пациентов с «полной» и «умеренной степенью зависимости» по данным шкалы Бартел. Высокие значения BDNF на 10-е сутки острой ишемии головного мозга выявлялись у пациентов с «полной независимостью» (по балльной оценке шкалы Бартел). Исключением в том и другом случае была группа пациентов с «выраженной степенью зависимостью» по шкале Бартел, где определялись высокие цифры BDNF и низкие значения NSE в сыворотке крови. Медиана возраста в этой группе составила 57 лет [51; 57]. В последствии, именно у данной группы пациентов при динамическом наблюдении отмечены лучшие показатели восстановления. Следовательно, при остром нарушении церебральной перфузии на фоне активации нейротрофических механизмов защиты головного мозга происходит уменьшение выраженности повреждения нервных клеток.

При оценке взаимосвязи между уровнем сывороточного белка p53 и степенью тяжести пациентов в остром периоде ишемического инсульта выявлена прямая корреляция со шкалой ESS ($r=0,341$, $p<0,05$) и индексом Бартеля ($r=0,252$, $p>0,05$), обратная – с балльной оценкой по шкале NIHSS ($r=-0,417$, $p<0,05$) и Рэнкина ($r=-0,432$, $p<0,05$).

Оценка связи между сывороточными маркерами и данными клинических неврологических шкал в раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта

При оценке корреляционной связи между клиничко-лабораторными данными в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта (через 6 месяцев с

момента начала симптомов заболевания) статистически значимые показатели определялись для BDNF и NSE.

При исследовании сывороточных уровней BDNF выявлялась обратная корреляция уровня биомаркера со степенью тяжести инсульта и степенью инвалидизации, то есть высокие показатели сывороточного уровня BDNF наблюдались у пациентов с минимально выраженным неврологическим дефицитом по данным шкалы NIHSS ($r=-0,158$, $p>0,05$) и легкой степенью инвалидизации по шкале Рэнкина ($r=-0,725$, $p<0,05$).

Более высокий уровень HSE отмечался у пациентов с выраженной степенью зависимости по данным шкалы Бартел ($r=-0,621$, $p<0,05$).

Следует отметить, что в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта все пациенты имели положительную динамику. При сравнении с показателями BDNF в остром периоде ОНМК отмечена тенденция к уменьшению уровня нейротрофического фактора головного мозга. Это, вероятнее всего, может быть обусловлено снижением активности нейропластических механизмов в восстановительном периоде при благоприятном исходе заболевания.

Для нейроспецифической енолазы в этом периоде сохраняется прямая корреляционная связь с тяжестью неврологического дефицита (для NIHSS – $r=0,267$, $p>0,05$; для ESS – $r=-0,412$, $p>0,05$, для индекса Бартел – $r=-0,621$, $p<0,05$) и степенью инвалидизации по шкале Рэнкина ($r=0,267$, $p>0,05$).

В связи с малым количеством полученных данных по белку p53 оценить взаимосвязь с клиническими неврологическими шкалами на данном этапе восстановительного периода не предоставлялось возможным.

В позднем восстановительном периоде ишемического инсульта статистически значимая корреляционная связь определялась только для BDNF со шкалой ESS ($r=-0,464$, $p<0,05$). Было выявлено повышение уровня BDNF в сыворотке крови у пациентов с выраженным неврологическим дефицитом, что может быть связано с продолжающимися у данных пациентов процессами восстановления, в то время как у пациентов с минимально выраженным неврологическим дефицитом нейротрофические процессы стабилизировались и не имели тенденции к нарастанию. Относительно нейроспецифической енолазы и белка p53 определялась прямая связь между уровнями данных сывороточных маркеров и степенью тяжести неврологического дефицита у пациентов с инфарктом мозга (ESS – $r=-0,055$, $p>0,05$).

Оценка уровня сывороточных биомаркеров в зависимости от исхода течения ишемического инсульта

С целью оценки прогностической роли используемых нами сывороточных биомаркеров пациенты по исходу заболевания были разделены на 2 группы: с благоприятным (NIHSS в 1-е сутки заболевания <10 баллов) и неблагоприятным

исходом заболевания (NIHSS в 1-е сутки заболевания >10 баллов). И в этих группах оценивалась динамика сывороточных биомаркеров на протяжении всего периода наблюдения. Полученные результаты наглядно представлены на рисунке 3.

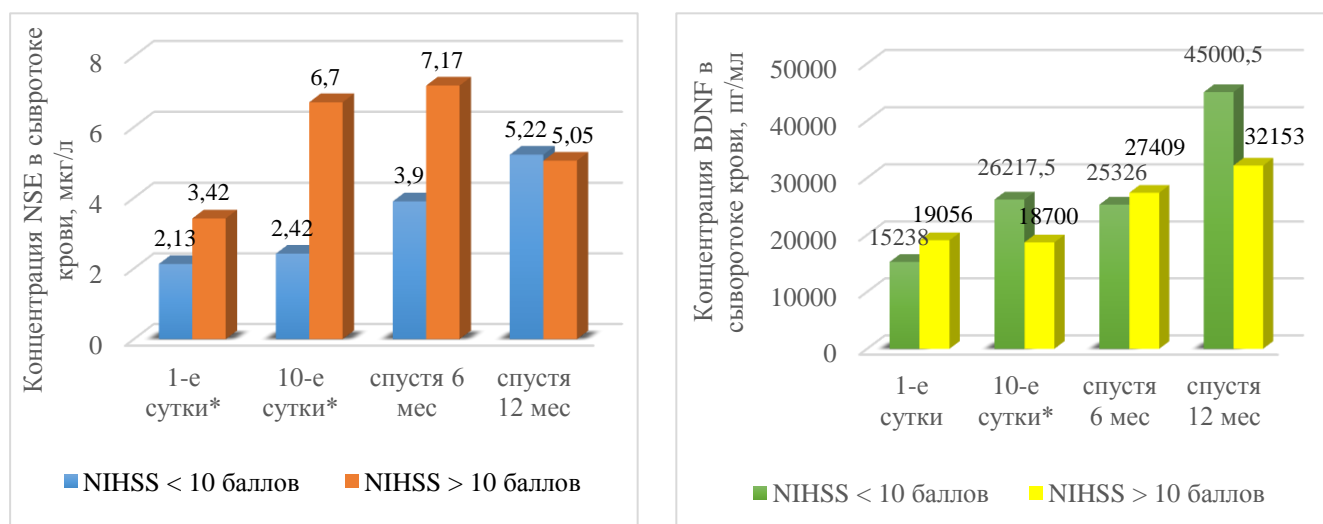


Рисунок 3. Динамика уровня NSE и BDNF в группе пациентов с NIHSS менее и более 10 баллов

*- $p < 0,05$

По данным статистического анализа и рисунков 3 и 4 отмечена достоверная разница уровней сывороточного белка NSE на 1-е и 10-е сутки между группами, оцениваемые по шкале NIHSS, с более высоким уровнем данного белка в группе пациентов с NIHSS более 10 баллов ($p < 0,05$).

Выявлено, что уровень BDNF на 10-е сутки ишемического инсульта был выше в группе пациентов, где NIHSS был менее 10 баллов ($p < 0,05$), что свидетельствует об активности защитных нейротрофических механизмов.

Следует отметить, что на основании полученных данных наблюдалась информативность не столько количественного определения уровня сывороточных маркеров на 1-е сутки заболевания, сколько динамика этих показателей в остром периоде ишемического инсульта. То есть у пациентов с благоприятным исходом течения заболевания (менее 10 баллов по шкале NIHSS) даже если в первые сутки отмечались более низкие значения уровня BDNF, то на 10-е сутки выявлялась тенденция к его повышению по сравнению с группой, имевшей неблагоприятный функциональный исход (NIHSS >10 баллов), где показатели уровня BDNF оставались на тех же значениях или имели тенденцию к уменьшению.

Результаты, полученные по белку p53, были неоднозначными. В группе пациентов с NIHSS <10 баллов отмечались более низкие значения белка в 1-е сутки (7,80 [0,00; 10,04]) по сравнению с группой где NIHSS был более 10 баллов (0,00 [0,00; 19,3]), что, однако не имело статически достоверной разницы ($p > 0,05$). На 10-е сутки инсульта была прослежена тенденция к увеличению белка p53 в

группе с благоприятным исходом течения по шкале NIHSS (<10 баллов) (53,24 [7,49; 99,00]), в то время как в другой группе (NIHSS>10 баллов) определялись нулевые значения белка (0,00 [0,00; 0,00]) ($p>0,05$). Таким образом, можно предположить, что если выраженность процессов апоптоза в 1-е сутки заболевания обусловлена, преимущественно, процессами повреждения и наличием у пациентов преморбидных факторов, способных изменять активность апоптотической гибели клеток, то на 10-е сутки заболевания, повышение показателя белка p53 может быть связано с апоптотическими механизмами происходящими не только в области ишемии, но и в отдаленных зонах головного мозга, где он участвует в процессах структурно-функциональной перестройки нервной ткани и гибели клеток.

Определение связи между уровнем сывороточных биомаркеров и размером очага поражения в исследуемых периодах ишемического инсульта

При проведении сравнительного анализа на 5-7 сутки ишемического инсульта выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнем BDNF и объемом очага инфаркта мозга по данным МРТ головного мозга (DWI ($r=-0,05$, $p=0,76$) и T2-режимов ($r=-0,74$, $p=0,65$)). Однако данная связь была статистически недостоверна.

В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта при сравнении уровней сывороточных биомаркеров с размерами очага поражения сохранялась обратная корреляционная зависимость между уровнем BDNF и объемом очага по данным DWI-режима ($r=-0,33$, $p=0,420$).

В позднем восстановительном периоде наблюдается прямо противоположная ситуация с выявлением прямой корреляционной зависимости между уровнем BDNF и размером очага по данным T2-режима ($r=0,314$, $p=0,135$). Отмечено, что при сравнении у пациентов со средним (10-50 см³) и большим (более 50 см³) объемом очага и выраженной степенью тяжести инсульта, уровень BDNF в сыворотке крови был выше и превалировал по сравнению с данными показателями в группе пациентов с меньшим объемом поражения и минимальным неврологическим дефицитом, что говорит о сохранности высокой активности нейропластических механизмов у данных пациентов в позднем восстановительном периоде.

Установлена достоверная связь между уровнем маркера повреждения NSE и размером очага инфаркта в остром, по данным DWI- ($r=0,529$, $p<0,05$) и T2-режимов МРТ ($r=0,515$, $p=0,001$), и в раннем восстановительном периоде инсульта по данным DWI-режима ($r=0,564$, $p=0,036$). Данная прямая корреляция отмечена и в других точках наблюдения, однако данная связь была статистически недостоверна.

Показана достоверная прямая связь между высоким уровнем белка p53 и размером очага в остром периоде ишемического повреждения ткани: на 1-е ($r=0,905$, $p=0,000$ для DWI- и T2-режимов МРТ) и 10-е сутки заболевания ($r=0,402$, $p=0,041$ для DWI- и T2-режимов МРТ), а также в позднем восстановительном периоде ($r=0,522$, $p=0,009$ для DWI-режима МРТ), что свидетельствует об активном участии патологического апоптоза в формировании конечного очага повреждения при ишемическом инсульте. Пациенты с нулевым значением белка p53 имели статистически значимо меньший объем повреждения по сравнению с группой, где показатель белка p53 в сыворотке крови был больше 0 ($p<0,05$) (таблица 3).

Таблица 3. Определение объемных показателей очага ишемии в группах с нулевым и ненулевым значением белка p53

Показатели	p53, 1 сутки				Значение p^*
	p53=0		p53 >0		
	n	Me [LQ; UQ]	n	Me [LQ; UQ]	
Объем по DWI, см ³	12	25,1 [22,8;52,4]	18	81,2 [71,6;91,7]	<0,001
Объем по T2, см ³	12	21,45 [21,4;36,2]	18	79,2 [61;96,7]	<0,001

* - критерий Манна-Уитни.

Таким образом, проведенное нами исследование позволило оценить связь между клиничко-нейровизуализационными данными и содержанием сывороточных биомаркеров (маркера повреждения – NSE, апоптоза – белка p53 и нейропластичности – BDNF) в остром, раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта. Показано, что применение данной панели биомаркеров, как индикаторов процесса повреждения и восстановления обладает прогностической значимостью в отношении установления исхода ишемического инсульта и может быть использовано для определения объема лечебных мероприятий.

ВЫВОДЫ

1. Доказана статистически значимая корреляционная связь тяжести неврологического дефицита у пациентов в остром периоде ишемического инсульта и показателей сывороточных биомаркеров NSE, белка p53, BDNF. В 1-е сутки у пациентов с ИИ тяжесть неврологического дефицита по шкале NIHSS положительно коррелировала с уровнем белка NSE ($r=0,458$, $p<0,01$). На 10-е сутки тяжесть неврологического дефицита по шкалам NIHSS, ESS и индекса Бартел также коррелировала с уровнем белка NSE ($r=0,746$, $p<0,01$, $r=-0,755$, $p<0,01$ и $r=-0,709$, $p<0,01$ соответственно); уровнем белка BDNF ($r=-0,443$, $p<0,01$, $r=0,328$, $p<0,05$ и $r=0,397$, $p<0,01$ соответственно), а неврологический дефицит по

шкалам NIHSS и ESS с белком p53 ($r=-0,417$, $p<0,05$ и $r=0,341$, $p<0,05$ соответственно).

2. В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта установлена выраженная корреляционная связь степени зависимости пациентов от посторонней помощи и их инвалидизации с показателями сывороточных биомаркеров NSE и BDNF, так уровень белка NSE коррелировал с индексом Бартел ($r=-0,621$, $p<0,05$) и уровень BDNF с бальной шкалой Рэнкина ($r=-0,725$, $p<0,05$). Доказана значимая обратная корреляционная связь тяжести неврологического дефицита, оцениваемой по шкале ESS, в позднем восстановительном периоде ишемического инсульта (12 месяцев) и уровнем показателя BDNF в сыворотке крови ($r=-0,464$, $p<0,05$).

3. Получена положительная корреляционная связь уровня сывороточного белка p53 и NSE в остром периоде ишемического инсульта с размером очага ишемии (для p53 в 1-е сутки – $r=0,905$, $p<0,01$, на 10-е сутки заболевания – $r=0,402$, $p=0,05$; для NSE на 10-е сутки – $r=0,529$, $p<0,05$), где высокие показатели отмечены при более выраженном объеме повреждения по данным МРТ-исследования головного мозга на 5-7 сутки инсульта (на T2- и DWI-режимах); при этом уровни BDNF обратно коррелировали на 10-е сутки заболевания с объемом очага поражения. Установлена прямая корреляция между размером очага поражения, по данным DWI-режима МРТ головного мозга, и уровнем NSE в раннем восстановительном периоде ИИ ($r=0,564$, $p=0,036$) и белка p53 в 12 месяцев ($r=0,522$, $p=0,009$).

4. Установлено, что у пациентов в остром периоде ишемического инсульта с неблагоприятным течением заболевания отмечались высокие показатели маркера повреждения (NSE) и стабильные цифры уровня BDNF или же тенденция к его снижению. У пациентов с благоприятным течением в остром периоде инсульта выявлялись низкие значения уровня NSE и тенденция к повышению уровня сывороточного белка BDNF на 10-е сутки заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании проведенного комплексного неврологического, лабораторного и нейровизуализационного анализа у пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу можно сформулировать следующие практические рекомендации:

1. Применение панели сывороточных биомаркеров, включающей маркеры повреждения (NSE) и нейропластичности (BDNF), может быть использовано в качестве биохимической верификации тяжести состояния пациентов с ишемическим инсультом.

2. Рекомендуется проводить комплексное определение содержания сывороточных биомаркеров (маркеров повреждения – NSE, апоптоза – белок p53

и нейропластичности – BDNF) пациентам с ишемическим инсультом на 1-е и 10-е сутки заболевания с целью определения дальнейшей индивидуализированной тактики лечения пациентов.

3. У пациентов со стабильными цифрами BDNF или с тенденцией к его снижению и высокими показателями NSE на 10-е сутки ишемического инсульта рекомендуется дополнительно проводить терапию, направленную на повышение активности процессов нейрогенеза.

4. Рекомендуется проводить комплексную оценку сывороточных маркеров в раннем и позднем восстановительном периодах ишемического инсульта, что позволит контролировать эффективность проводимых лечебных мероприятий.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гулиева, М. Ш. Роль биомаркеров крови в прогнозировании исхода течения ишемического инсульта / М.Ш. Гулиева, С.Д. Багманян, А.С. Чуканова, Е.И. Чуканова // **Consilium Medicum** – 2020. – Т. 22. – №9. – С. 28-32.

2. Гулиева, М. Ш. Динамика маркеров апоптоза в остром периоде ишемического инсульта / Т.П. Ключник, И.Н. Отман, А.С. Чуканова, Г.Г. Надарейшвили, М.Ш. Гулиева, Е.И. Гусев // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова** – 2018. – т. 118. – №9-2. – С.26-31.

3. Гулиева, М. Ш. Патогенетические аспекты формирования острой фокальной ишемии головного мозга / А.С. Чуканова, Е.И. Чуканова, Г.Г. Надарейшвили, М.Ш. Гулиева, Е.И. Гусев // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова** – 2017. – Т.117. – №12-2. – С.4-10.

4. Гулиева, М. Ш. Оценка эффективности использования нейроспецифических белков в диагностике инсульта и прогнозе течения заболевания / М.Ш. Гулиева, А.С. Чуканова, Г.Г. Надарейшвили // Международный конгресс, посвященный Всемирному Дню Инсульта. Москва, 25-27 октября 2017: сборник материалов под редакцией Е.И. Гусева, А.Б. Гехт, М.Ю. Мартынова. – С. 495-497.

5. Гулиева, М. Ш. Антитромботическая терапия как первичная и вторичная профилактика инсульта / М.Ш. Гулиева, А.С. Чуканова, Е.И. Чуканова, Г.Г. Надарейшвили // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.** – 2016. – Т. 116. – №10. – С. 85-88.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) – нейротрофический (нейротропный) фактор мозга

DWI-режим (ДВИ-режим) – режим диффузионно-взвешенного изображения

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) – иммуноферментный анализ

ESS – европейская шкала инсульта

FLAIR-режим (Fluid attenuation inversion recovery) – подавление жидкости путем установки времени инверсии, которое обнуляет жидкости

LQ – нижний квартиль

Me – медиана

NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) – шкала инсульта Национального института здоровья

NSE (HSE) – нейронспецифическая енолаза

UQ – верхний квартиль

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВАК – Высший аттестационный комитет

ВО – высшее образование

ГКБ – Городская Клиническая Больница

ИИ – ишемический инсульт

КТ – компьютерная томография

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

пг/мл – пикограмм вещества в 1 мл плазмы

ПТВ – протромбиновое время

ПТИ – протромбиновый индекс

РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ – Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Министерства здравоохранения Российской Федерации

США – Соединенные штаты Америки

ФГАОУ – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

ФГБНУ – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

SS-QOL (Stroke Specific Quality of Life Scale) – шкала оценки качества жизни при инсульте