

# Маркеры дисфункции эндотелия при ишемическом инсульте в зависимости от его патогенетических подтипов

А. Ю. Рябченко<sup>1</sup>, А. М. Долгов<sup>1</sup>, Е. Н. Денисов<sup>1</sup>, Н. В. Аптикеева<sup>1</sup>, Н. Г. Гуманова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России

<sup>2</sup> Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России, г. Москва

**Цель исследования:** изучение особенностей изменения маркеров эндотелиальной дисфункции при ишемическом инсульте (ИИ) и различных подтипах инсульта.

**Дизайн:** исследование случай-контроль.

**Материалы и методы.** Обследовали 110 пациентов мужского и женского пола с диагнозом ИИ, разделенных на подгруппы с атеротромботическим, кардиоэмболическим, лакунарным инсультом.

На 1–2-е и 12–15-е сутки заболевания оценивали уровень оксида азота в сыворотке крови методом определения суммарной концентрации его стабильных метаболитов (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>) и содержание эндотелина 1 (ЭТ-1) в плазме крови иммуноферментным методом; определяли неврологический статус по шкале инсульта Национальных институтов здоровья США (NIHSS) и Скандинавской шкале инсульта (SSS). Результаты обрабатывали с помощью программы BioStat 2009.

**Результаты.** Неврологический дефицит был наименьшим при лакунарном подтипе (50,9 ± 1,3 балла по SSS; 4,1 ± 0,3 балла по NIHSS), более выраженным — при атеротромботическом (42,6 ± 1,6 балла по SSS; 6,7 ± 0,6 балла по NIHSS) и максимальным — при кардиоэмболическом (32,7 ± 3,4 балла по SSS; 12,1 ± 1,8 балла по NIHSS).

Уровень ЭТ-1 при атеротромботическом подтипе составил 2,1 ± 0,7 фмоль/л, при кардиоэмболическом — 1,0 ± 0,3 фмоль/л, при лакунарном — 0,5 ± 0,1 фмоль/л. Содержание NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> при кардиоэмболическом подтипе снизилось на 54,2%, при атеротромботическом на 25,7% и при лакунарном на 8,0%.

**Заключение.** Выявление наиболее выраженных изменений при атеротромботическом и кардиоэмболическом подтипах ИИ может свидетельствовать об их роли в патогенезе атеротромбоза и кардиоэмболических осложнений.

**Ключевые слова:** ишемический инсульт, оксид азота, эндотелин 1, эндотелиальная дисфункция.

## Markers of Endothelial Dysfunction in Ischemic Stroke, Depending on Its Pathogenic Subtypes

A. Yu. Ryabchenko<sup>1</sup>, A. M. Dolgov<sup>1</sup>, E. N. Denisov<sup>1</sup>, N. V. Aptikeeva<sup>1</sup>, N. G. Gumanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Orenburg State Medical University, Ministry of Health of Russia

<sup>2</sup> National Research Center for Preventive Medicine, Ministry of Health of Russia, Moscow

**Study Objective:** To investigate specific patterns of changes in markers of endothelial dysfunction in ischemic stroke (IS) and different stroke subtypes.

**Study Design:** This was a case-control study.

**Materials and Methods:** We examined 110 male and female patients with IS and divided them into several subgroups, depending on the cause of stroke: atherosclerosis (thrombosis), cardioembolism, and lacune.

On days 1-2 and days 12-15, serum levels of nitric oxide were assessed by measuring the total concentration of its stable metabolites (NO<sub>2</sub> and NO<sub>3</sub>); plasma endothelin-1 (ET-1) levels were determined by an immunosorbent assay. At the same time points, neurological assessments were done using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) and the Scandinavian Stroke Scale (SSS). The study results were processed using BioStat 2009 software.

**Study Results:** The least severe neurological deficit was associated with a lacunar stroke (SSS score 50.9 ± 1.3 and NIHSS score 4.1 ± 0.3); such a deficit was more evident in strokes caused by atherosclerosis (thrombosis) (SSS score 42.6 ± 1.6 and NIHSS score 6.7 ± 0.6). The biggest deficit was seen in cardioembolic strokes (SSS score 32.7 ± 3.4 and NIHSS score 12.1 ± 1.8).

In patients who had a stroke caused by atherosclerosis (thrombosis), cardioembolism, and lacune, the ET-1 levels were 2.1 ± 0.7 fmol/L, 1.0 ± 0.3 fmol/L, and 0.5 ± 0.1 fmol/L, respectively. The levels of NO<sub>2</sub> and NO<sub>3</sub> decreased by 54.2% in patients with a cardioembolic stroke, by 25.7% in those who had atherosclerosis (thrombosis) as the stroke cause, and by 8.0% in those with a lacunar stroke.

**Conclusion:** The most significant changes were seen when IS was caused by atherosclerosis (thrombosis) or cardioembolism. This may suggest that these changes play a certain role in the pathogenesis of atherosclerosis (thrombosis) and cardioembolic events.

**Keywords:** ischemic stroke, nitric oxide, endothelin-1, endothelial dysfunction.

Смертность от ишемического инсульта (ИИ) занимает третье место в общей структуре смертности населения экономически развитых стран, ИИ составляет около 9% от всех причин смерти [2, 3, 7, 9]. Причем в последнее десятилетие наблюдается отчетливая тенденция к увеличению числа случаев ишемических инсультов и уменьшению —

**Аптикеева Наталья Владимировна** — к. м. н., доцент кафедры неврологии, медицинской генетики ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6. E-mail: naptikeeva@yandex.ru

**Гуманова Надежда Георгиевна** — к. б. н., ведущий научный сотрудник отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России. 101990, г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3. E-mail: gumanova@mail.ru

**Денисов Евгений Николаевич** — д. м. н., доцент, заведующий кафедрой биофизики и математики ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6. E-mail: denisov-en@mail.ru

**Долгов Александр Михайлович** — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой неврологии, медицинской генетики ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6. E-mail: amdolgov@yandex.ru

**Рябченко Александр Юрьевич** — к. м. н., ассистент кафедры неврологии, медицинской генетики ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, д. 6. E-mail: nevrolg2007@inbox.ru

геморрагических [5]. Остается недостаточно исследованной роль нитроксида азота и эндотелин-зависимых механизмов регуляции вазомоторной функции эндотелия сосудов в остром периоде ИИ. Не изучены особенности концентрации стабильных метаболитов оксида азота (NO) и эндотелина 1 (ЭТ-1) при различных патогенетических подтипах ИИ.

**Целью** исследования, проведенного кафедрой неврологии, медицинской генетики Оренбургского государственного медицинского университета (заведующий кафедрой — д. м. н., профессор А. М. Долгов), было изучение особенностей изменения маркеров эндотелиальной дисфункции при ИИ и различных подтипах инсульта.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 110 пациентов в остром периоде ИИ, которые находились на лечении в неврологическом отделении ГАУЗ «Городская клиническая больница имени Н. И. Пирогова» (г. Оренбург) в 2012–2013 гг. Критериями исключения из исследования были наличие преходящего нарушения мозгового кровообращения, геморрагического инсульта, опухоли головного мозга, инфаркта миокарда, тромбоэмболии легочной артерии или декомпенсации сердечной, легочной, почечной либо печеночной недостаточности, тяжелые формы гематологических, онкологических и эндокринных заболеваний, а также тяжелые психические заболевания, острые и обострения хронических инфекционных болезней. В исследование также не включали больных моложе 30 лет и старше 80 лет и женщин до периода менопаузы.

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом, и от всех участников было получено письменное информированное согласие.

**Контрольную группу** составили 20 пациентов с хронической сосудистой мозговой недостаточностью без инсульта в анамнезе. **Исследуемая группа** пациентов с ИИ была разделена на подгруппы с атеротромботическим, кардиоэмболическим и лакунарным патогенетическими подтипами инсульта согласно критериям общепризнанной классификации патогенетических подтипов ишемического инсульта Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST).

Оценку неврологического статуса производили с помощью Скандинавской шкалы инсульта (Scandinavian Stroke Scale — SSS) и шкалы инсульта Национальных институтов здоровья США (National Institutes of Health Stroke Scale — NIHSS), которые позволяют в течение 10 минут оценить выраженность неврологических расстройств. Неврологический статус оценивали на 1–2-е и 15-е сутки заболевания. По степени выраженности неврологического дефицита весь контингент больных исследуемой группы был разделен на три подгруппы. В подгруппу с легким неврологическим дефицитом вошли пациенты, имевшие от 3 до 7 баллов по NIHSS и более 45 баллов по SSS; с умеренным — пациенты с 8–12 баллами по NIHSS и 30–45 баллами по SSS; с выраженным — пациенты с 13 и более баллами по NIHSS и менее чем с 30 баллами по SSS.

Измерение ЭТ-1 в плазме крови у пациентов с ИИ выполняли иммуноферментным методом с помощью набора для количественного определения эндотелина 1–21 в биологических жидкостях Endothelin 1–21 (Biomedica, Австрия) на 1–2-е и 12–15-е сутки заболевания.

Для оценки уровня NO использовали метод определения в депротеинизированной сыворотке крови суммарной концентрации его стабильных метаболитов — нитритов и нитра-

тов ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ) — по реакции их восстановления в присутствии хлористого ванадия ( $\text{VCl}_3$ ) и реакции диазотирования сульфаниламида (с реактивом Грисса) при предварительном восстановлении нитрат-ионов в нитрит с помощью  $\text{VCl}_3$  [4]. Изучали пробы крови, взятые натощак из локтевой вены. Перед забором крови всем пациентам была назначена низконитратная диета. Исследования проводили на 1–2-е и 12–15-е сутки заболевания.

Все результаты были обработаны с помощью программы BioStat 2009. Статистически значимыми считали различия при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди больных основной группы были 80 (72,7%) мужчин и 30 (27,3%) женщин в возрасте от 33 до 79 лет (средний возраст —  $63 \pm 7,64$  года).

Оценка неврологического статуса пациентов основной группы выявила, что из неврологических синдромов у них преобладали нарушения движения — центральные парезы и парезы, — частота которых составила 72,3%. Нарушения высших корковых функций, а именно моторная афазия, сенсорная афазия, сенсомоторная афазия, алексия, акалькулия, аграфия, отмечены у 26,8% больных; бульбарный синдром — у 17,9%; дизартрия — у 17,9%; патология чувствительности в виде гипестезии — у 16,1%; вестибулоатактический синдром — у 16,1%; двигательные нарушения, выражавшиеся в пирамидном дефиците, — у 6,3%; синдром глазодвигательных нарушений — у 3,6%; расстройство сознания — у 3,6%; нарушения полей зрения — у 2,7% больных. По результатам оценки факторов риска (ФР) развития ИИ, ведущим ФР была артериальная гипертензия, встречающаяся у 76,0% пациентов с инсультом. Атеросклероз отмечали у 27,7% больных основной группы; расстройства сердечного ритма имелись у 18,8%, сахарный диабет — у 8,9%.

В основной группе преобладали больные с атеротромботическим подтипом ИИ: 70 (63,6%) пациентов, — что отличалось от мировой статистики, где на долю атеротромботического инсульта приходится от 30% до 50% от общего числа ИИ [1]. Различия со статистическими данными были связаны с наличием изменений в сосудистой стенке в результате атеросклероза и ангиопатии, развивающейся при артериальной гипертензии. Пациентов с кардиоэмболическим подтипом было 23 (20,9%), и основной причиной развития инсульта у них являлись нарушения сердечного ритма, прежде всего пароксизмальная и постоянная формы фибрилляции предсердий, и приобретенные пороки сердца, возникшие на фоне ревматической болезни. Лакунарный подтип встречался у 17 (15,5%) пациентов и главным образом был связан с микроангиопатией, развивающейся при гипертонической болезни. Он сопровождался образованием небольшого очага инфаркта в белом веществе головного мозга. У этих больных имелся также моносимптомный неврологический дефект.

Как показала оценка тяжести неврологического дефицита у пациентов с различными патогенетическими подтипами ИИ, для лакунарного подтипа характерен наименьший неврологический дефицит: по SSS средний балл составил  $50,9 \pm 1,3$ ; по NIHSS —  $4,1 \pm 0,3$  (рис. 1). Это связано с его моносимптомным характером и с небольшим участком ишемии при лакунарном инсульте (как правило, не превышающим 1–1,5 см). У пациентов с атеротромботическим подтипом наблюдался более выраженный неврологический дефицит: средний балл по NIHSS увеличился до  $6,7 \pm 0,6$ , что выше, чем при лакунарном подтипе, на 63,4% ( $p \leq 0,05$ ),

а по SSS уменьшился до  $42,6 \pm 1,6$ , что на 16,3% ниже в сравнении с лакунарным подтипом ( $p \leq 0,05$ ). При кардиоэмболическом подтипе отмечался еще более выраженный неврологический дефицит: средний балл по NIHSS составил  $12,1 \pm 1,8$  и был больше, чем при атеротромботическом подтипе, на 80,6% ( $p \leq 0,01$ ), а по SSS равнялся  $32,7 \pm 3,4$ , что на 23,2% ниже в сравнении с атеротромботическим подтипом ( $p \leq 0,01$ ).

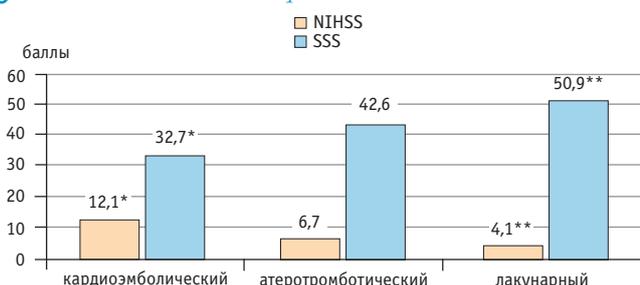
В динамике наблюдения на 15-е сутки у пациентов с лакунарным подтипом ИИ отмечался наиболее выраженный регресс неврологического дефицита: по сравнению с показателем на 1–2-е сутки средний балл по NIHSS снизился на 19,5% ( $p \leq 0,05$ ), — что было связано с малым очагом ишемии и отсутствием у данной категории пациентов явлений отека головного мозга. При атеротромботическом подтипе ИИ средний балл по NIHSS снизился относительно уровня 1–2-х суток на 13,3% ( $p \leq 0,05$ ), а у больных с кардиоэмболическим инсультом отмечался более выраженный регресс неврологической симптоматики, чем при атеротромботическом подтипе ИИ: средний балл по NIHSS стал ниже показателя 1–2-х суток на 17,35% ( $p \leq 0,01$ ). По сравнению с показателями 1–2-х суток у пациентов с лакунарным подтипом ИИ средний балл по SSS повысился на 4,1% ( $p \leq 0,05$ ), у лиц с атеротромботическим подтипом ИИ — на 6,9% ( $p \leq 0,05$ ), а у больных с кардиоэмболическим инсультом регресс неврологического дефицита был наиболее высоким: средний балл по SSS стал выше на 15,36% ( $p \leq 0,01$ ).

Определенной нами снижение суммарной концентрации  $NO_2$ ,  $NO_3$  в сыворотке крови у пациентов с различными патогенетическими подтипами ИИ подтверждалось исследованиями других авторов [6, 10, 11]. По сравнению с контрольной группой у пациентов с лакунарным подтипом отмечалось незначительное снижение уровня  $NO_2$ ,  $NO_3$ , не имевшее статистической значимости (на 8,0%,  $p > 0,05$ ) (рис. 2). При атеротромботическом подтипе происходило более выраженное его снижение (на 25,7%,  $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о значении дефицита NO при развитии атеротромбоза. При кардиоэмболическом инсульте отмечалось наиболее выраженное снижение уровня  $NO_2$ ,  $NO_3$  (на 54,2%,  $p < 0,01$ ), что подтверждает роль нитроксидергических реакций в развитии кардиоцеребральных взаимоотношений.

Рис. 1. Оценка выраженности неврологического дефицита при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта по шкале инсульта Национальных институтов здоровья США (National Institutes of Health Stroke Scale — NIHSS) и Скандинавской шкале инсульта (Scandinavian Stroke Scale — SSS), баллы.

\* Различия с атеротромботическим инсультом статистически значимы:  $p \leq 0,01$ .

\*\* Различия с атеротромботическим инсультом статистически значимы:  $p \leq 0,05$



В ходе анализа уровня ЭТ-1 у пациентов с различными патогенетическими подтипами инсульта было обнаружено его повышение в остром периоде ИИ, что также подтверждается данными других исследователей [8]. Наиболее высокий уровень ЭТ-1 относительно контрольных значений наблюдался в группе с атеротромботическим подтипом:  $2,1 \pm 0,7$  фмоль/л ( $p < 0,01$ ) (рис. 3). При кардиоэмболическом подтипе уровень ЭТ-1 был на 52,4% ниже, чем при атеротромботическом подтипе:  $1,0 \pm 0,3$  фмоль/л, — но он также статистически значимо отличался от контроля ( $p < 0,05$ ). У пациентов с лакунарным подтипом наблюдался еще более низкий уровень ЭТ-1:  $0,5 \pm 0,1$  фмоль/л, — однако и он статистически значимо превышал данные контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Наиболее высокий рост содержания ЭТ-1 отмечался у пациентов с выраженным неврологическим дефицитом. При атеротромботическом подтипе уровень ЭТ-1 также был статистически значимо выше, чем у пациентов с кардиоэмболическим и лакунарным подтипами ( $p \leq 0,01$ ).

Исследование уровня стабильных метаболитов NO проводилось в динамике ИИ на 12–15-й день. В подгруппах с легким и умеренным неврологическим дефицитом отмечался значительный прирост концентрации стабильных метаболитов NO: на 8,9% ( $p < 0,05$ ) и 30,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно, — что свидетельствует о сохранности компенсаторных механизмов вазодилатации, участвующих в регуляции тонуса сосудов, у данной категории лиц. В подгруппе с выраженным неврологическим дефицитом рост содержания стабильных метаболитов NO был еще более значительным: на 31,4% ( $p < 0,01$ ). Это указывает на сохранение адаптационных механизмов, направленных на поддержание нитроксидергических реакций, регулирующих тонус сосудов, у пациентов данной подгруппы.

Уровень ЭТ-1 также исследовался на 12–15-е сутки заболевания. Выявлено, что ЭТ-1 практически не подвергается значимым колебаниям в остром периоде инсульта. В под-

Рис. 2. Изменения суммарной концентрации  $NO_2$  и  $NO_3$  в сыворотке крови при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта, мкмоль/л

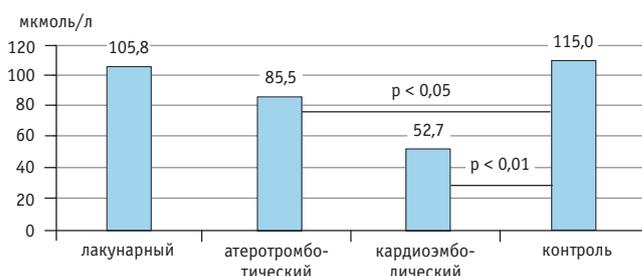
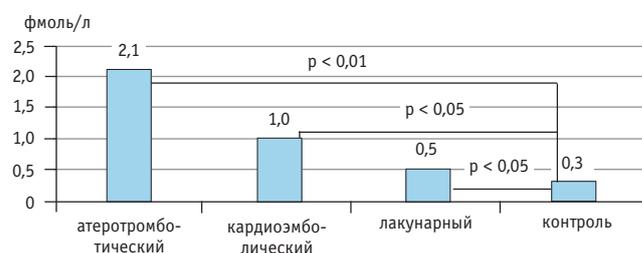


Рис. 3. Изменения уровня эндотелина 1 при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта, фмоль/л



группе пациентов с умеренным неврологическим дефицитом на 12–15-й день ЭТ-1 был на уровне  $0,8 \pm 0,1$  фмоль/л — статистически значимо выше, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ). В подгруппе с легким неврологическим дефицитом наблюдалось незначительное снижение уровня ЭТ-1 — до  $0,5 \pm 0,03$  фмоль/л — при сохранении статистически значимого отличия от группы контроля ( $p < 0,05$ ). В подгруппе с выраженным неврологическим дефицитом происходило большее снижение уровня ЭТ-1 — до  $4,3 \pm 1,5$  фмоль/л ( $p < 0,05$  при сравнении с показателем на 1–2-е сутки наблюдения), — однако эта величина значительно превышала данные в контрольной группе. В динамике ИИ, несмотря на рост концентрации стабильных метаболитов NO, сохра-

нялся высокий уровень ЭТ-1, что способствовало сохранению вазоконстрикторных реакций, усугублению нарушений мозгового кровотока и, соответственно, нарастанию неврологической симптоматики.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет говорить о том, что эндотелинергические и нитроксидергические реакции системы кровообращения причастны к динамике развития ишемического инсульта. Выявление наиболее выраженных изменений при атеротромботическом и кардиоэмболическом подтипах инсульта может свидетельствовать об их роли в патогенезе атеротромбоза и кардиоэмболических осложнений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е. И., Фрис Я. Е., Шелякина Л. А. Информированность населения о факторах риска сосудистых заболеваний головного мозга и клинических проявлениях инсульта // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2010. № 9. С. 3–12.
2. Данилов В. И., Хасанова Д. Р. Инсульт. Современные подходы диагностики, лечения и профилактики: методические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 248 с.
3. Дранкина О. М. Мозговой инсульт: взгляд из терапевтического окна // Consilium Medicum. 2011. № 10 (13). С. 119–122.
4. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клин. лаб. диагностика. 2005. № 6. С. 15–18.
5. Парфенов В. А., Хасанова Д. Р. Ишемический инсульт. М.: МИА, 2012. 288 с.
6. Расулова Х. А. Нарушение обмена оксида азота при ишемическом инсульте в зависимости от его патогенетических подтипов // Мед. альманах. 2013. № 1. С. 111–114.
7. Цукурова Л. А., Бурса Ю. А. Факторы риска, первичная и вторичная профилактика острых нарушений мозгового кровообращения // Рус. мед. журн. «Неврология». 2012. № 10. С. 494–500.
8. Щепанкевич Л. А., Вострикова Е. В., Пилипенко П. И., Ярмошук А. В. и др. Эндотелиальная дисфункция при ишемическом инсульте у больных сахарным диабетом // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2011. № 12. С. 28–30.
9. Kissela B. M., Khoury J. C., Alwell K., Moomaw C. J. et al. Age at stroke: temporal trends in stroke incidence in a large, biracial population // Neurology. 2012. Vol. 79. N 17. P. 1781–1787.
10. Miao Y., Liao J. K. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke // Expert Rev. Neurother. 2014. Vol. 14. N 2. P. 173–185.
11. Scherbakov N., Sandek A., Martens-Lobenhoffer J., Kung T. Endothelial dysfunction of the peripheral vascular bed in the acute phase after ischemic stroke // Cerebrovasc. Dis. 2012. Vol. 33. N 1. P. 37–46. 

### Библиографическая ссылка:

Рябченко А. Ю., Долгов А. М., Денисов Е. Н., Аптикеева Н. В. и др. Маркеры дисфункции эндотелия при ишемическом инсульте в зависимости от его патогенетических подтипов // Доктор.Ру. Неврология Психиатрия. 2016. № 4 (121). С. 22–25.