

## НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ GFAP, MMP-9, NSE У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Кадырова И.А.

*РГП ПХВ «Карагандинский государственный медицинский университет», Караганда, e-mail: irina.adilevna@gmail.com*

Метаболический синдром – это комплекс метаболических, гормональных и клинических нарушений, являющихся факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу. В статье рассматривается гипотеза о бессимптомном ишемическом повреждении головного мозга у пациентов с метаболическим синдромом на основании определения нейроспецифических маркеров: нейроспецифической енолазы, глиального фибриллярного кислого протеина и матриксной металлопротеиназы 9. Научной новизной проведенного исследования является установление взаимосвязи между наличием метаболического синдрома и повышением концентрации нейроспецифической енолазы у пациентов. Это свидетельствует о наличии бессимптомного нейронального повреждения головного мозга у пациентов с метаболическим синдромом. Взаимосвязь между изменением концентрации глиального фибриллярного кислого протеина и матриксной металлопротеиназы 9 у участников с метаболическим синдромом отсутствует.

Ключевые слова: инсульт, NSE, GFAP, MMP-9, метаболический синдром.

## NEUROSPECIFIC SERUM MARKERS GFAP, MMP-9, NSE IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Kadyrova I.A.

*Karaganda State Medical University, Karaganda, e-mail: irina.adilevna@gmail.com*

Metabolic syndrome – is a complex of metabolic, hormonal and clinical disorders which are risk factors for cardiovascular disease, including acute disorders of cerebral circulation according to the ischemic type. The article discusses the hypothesis of asymptomatic ischemic brain damage in patients with the metabolic syndrome on the basis of determination of neurospecific markers: neurospecific enolase, glial febrile acid protein, matrix metalloproteinase 9. The scientific novelty of the research is in the establishment of the relationship between MS and the increased concentration of neurospecific enolase. This indicates the presence of silent neuronal brain injury in patients with metabolic syndrome. The relationship between the changed concentration of glial febrile acid protein and matrix metalloproteinase 9 in participants with metabolic syndrome is absent.

Keywords: stroke, NSE, GFAP, MMP-9, the metabolic syndrome.

Ишемический инсульт головного мозга (ИИ) – многофакторное заболевание, основным патогенетическим фактором которого является атеросклероз магистральных сосудов и сосудов головного мозга.

Существует много методов диагностики и профилактики атеросклероза. В качестве диагностики применяют: доплерографическое сканирование сосудов, магнитно-резонансную томографию, компьютерная томография и т. д. Для профилактики рекомендуют избегать воздействия факторов риска атерообразования, применять статины, а в роли категорического решения – реконструктивные сосудистые операции. Также существуют и прогностические методики, определяющие вероятность возникновения инсульта в группах риска. Одна из них была разработана авторами статьи [1]. В данной работе приведены материалы, полученные в рамках выполнения диссертационной работы И.А. Кадыровой [2].

На наш взгляд, группой, сочетающей в себе многие факторы риска, являются пациенты с метаболическим синдромом (МС). Им присущи следующие характеристики: повышенное артериальное давление, инсуллинорезистентность и/или повышенный уровень глюкозы крови, абдоминальное ожирение, дислипидемии. Зачастую у таких пациентов повышен уровень мочевой кислоты, С-реактивного белка, изменен гормональный профиль. Все эти факторы запускают и поддерживают формирование атеросклероза.

Согласно изданиям «Diabetes Care» и «Stroke» у пациентов с метаболическим синдромом обнаружено бессимптомное ишемическое повреждение головного мозга [3,4]. Это показано при помощи магнито-резонансной томографии. В последнее время широко используют нейроспецифические маркеры: нейрон-специфическую енолазу (NSE), глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP), матриксную металлопротеиназу-9 (MMP-9) для определения повреждения нейрональной и глиальной ткани головного мозга [5, 6]. Но сведений о применении этих маркеров у пациентов с МС до манифестации острого нарушения мозгового кровообращения найдено не было.

**Целью** нашего исследования явилось определение у пациентов с МС маркеров повреждения головного мозга: NSE, GFAP, MMP-9, чтобы описать их концентрацию и прогностическую ценность в развитии острого нарушения мозгового кровообращения.

Научной новизной нашего исследования явилось определение концентраций NSE, GFAP, MMP-9 в сыворотке крови у пациентов с МС. Данное исследование призвано изучить состояние головного мозга у пациентов с МС с точки зрения концентраций нейроспецифических белков и рассмотреть изменение концентраций как прогностический критерий острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу [2].

**Материалы и методы исследования.** В исследование было включено 157 участников в возрасте от 50 до 80 лет с равным включением мужчин и женщин.

Первую группу (контрольную) составили 38 практически здоровых людей. Критериями включения в контрольную группу явились: возраст от 50–80 лет, индекс массы тела (ИМТ) в пределах 18,5–25,0, нормальное артериальное давление, показатели биохимического анализа крови, соответствующие норме [2]. Вторую группу представили пациенты с МС в количестве 39 человек. Диагностирование метаболического синдрома проводилось по критериям International Diabet Federation (IDF 2005). В третью группу вошли 44 пациента с ИИ в возрасте от 50–80 лет, обоих полов. Четвертую группу составили 36 пациентов с ИИ и МС.

Пациенты, испытавшие ишемический инсульт, наблюдались в первые 12–72 часа после манифестации события. Забор крови для определения NSE производился в первые 12

часов, для определения GFAP и MMP-9 – в первые 24–72 часа, согласно рекомендациям к наборам реагентов.

Исследование включало в себя: анкетирование, измерение антропометрических данных, окружности талии, лабораторное обследование и клинично-инструментальное обследование. В анкете были представлены вопросы на выявление факторов риска. Для исследования использовалась следующая информация: пол, возраст, этническая принадлежность, данные о возможной симптоматике нарушения мозгового кровообращения, результаты антропометрических, лабораторных и клинично-инструментальных исследований, необходимых для определения метаболического синдрома и маркеров NSE, GFAP и MMP-9.

Биохимические исследования показателей липидного спектра крови включали определение общего холестерина, триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой и низкой плотности (хЛПВП и хЛПНП) стандартными методами на биохимическом анализаторе. Результаты оценивали в ммоль/л. Определение глюкозы крови проводилось путем забора капиллярной крови из пальца после 12-часового голодания. Результаты оценивались в ммоль/л. Концентрацию фибриногена оценивали в г/л. Забор проб крови на лабораторные анализы проводился у всех больных из локтевой вены натошак в стандартных условиях. Биохимические исследования крови проводились в лаборатории Центра Первичной Медико-Санитарной Помощи № 2 с обязательным внешним и внутренним контролем. Анализ крови проводился на биохимическом анализаторе BioSystemA-15 с использованием реагентов фирмы Vital [2].

Определение маркеров NSE, GFAP и MMP-9 проводилось в Лаборатории Коллективного Пользования (ЛКП) Карагандинского государственного медицинского университета. Кровь собиралась вакуумными системами Vacutainer с гелем для отделения сыворотки. После забора кровь в первый час центрифугировалась и транспортировалась в ЛКП для дальнейшего исследования. Лизированные образцы исключались из исследования. Для определения маркеров использовались следующие наборы реагентов: NSE ELISA (Fujirebio), Human GFAP ELISA (BioVendor), Human MMP-9 ELISA (Bender MedSystems). Иммуноферментный анализ проводился на работе Tecan Evolizer 100. Результаты оценивались: для NSE в мкг/л, для GFAP и MMP-9 в нг/мл.

Диагностирование метаболического синдрома осуществлялось по критериям IDF (2005): абдоминальное ожирение (окружность талии у мужчин > 94 см, у женщин > 80 см) и любые два из нижеперечисленных признаков: 1) ТГ  $\geq$  1,7 ммоль/л; 2) хЛПВП у мужчин < 1,03 ммоль/л, у женщин < 1,29 ммоль/л или гиполипидемическая терапия; 3) систолическое артериальное давление (САД)  $\geq$  130 или диастолическое артериальное давление (ДАД)  $\geq$  85 мм рт. ст. или антигипертензивная терапия; 4) гликемия натошак  $\geq$  5,6 ммоль/л [7].

Цветное доплерографическое картирование брахиоцефального ствола проводилось сканером Medison sonoace X8 (линейный датчик 5–12 мГц).

Статистическая обработка осуществлялась при помощи программы IBMSPSS 20. В качестве методов анализа использовались: дисперсионный анализ Краскелла – Уоллиса, определение критерия t-Стьюдента и U-критерия Манна – Уитни.

**Результаты и обсуждение.** Следующим этапом работы явилась статистическая обработка полученных данных с определением коэффициентов корреляции [2]. Так как выборка разделена на 4 группы, и распределение изучаемых признаков NSE, GFAP и MMP-9 не во всех группах является нормальным, то для сравнения этих групп без инфляции ошибки второго рода использовался непараметрический H-test с определением критерия Краскелла – Уоллиса [8]. Результаты анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты сравнения маркеров NSE, GFAP и MMP-9 в четырех группах

Изучаемый маркер	Критерий Краскелла – Уоллиса	$\chi^2$	Степень свободы	p
NSE	88,498	83,861	3	<0,001
GFAP	81,962	82,687	3	<0,001
MMP-9	58,843	59,987	3	<0,001

На рисунке 1 представлена диаграмма размаха NSE в четырех группах.

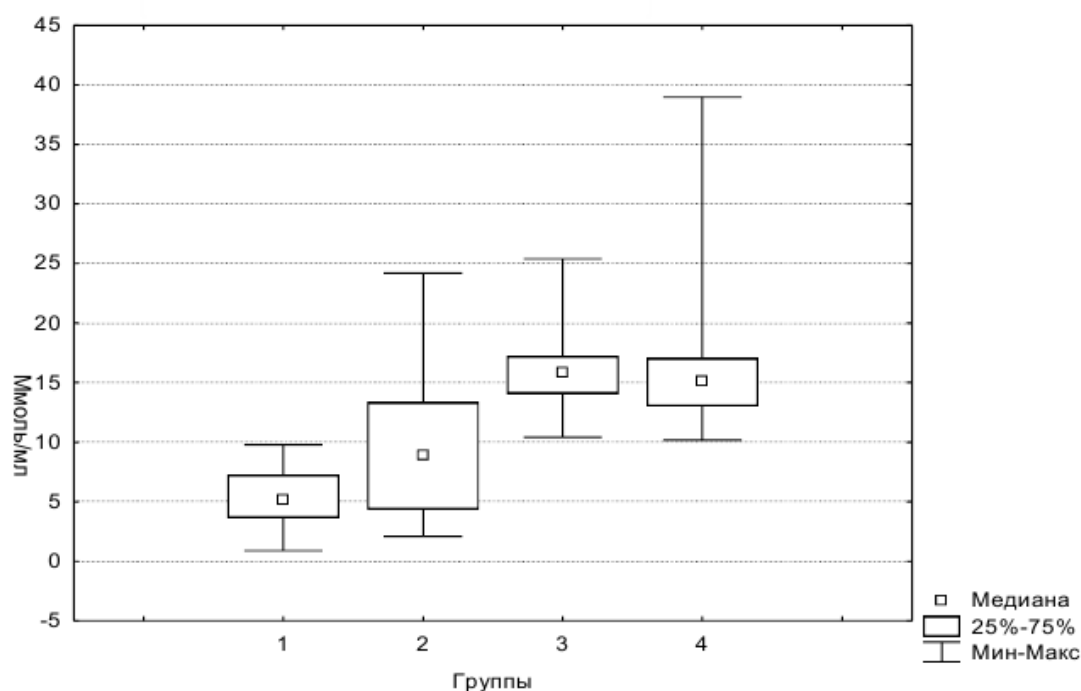


Рис. 1. Диаграмма размаха NSE в четырех группах

Также на рисунке 2 представлена диаграмма размаха GFAP в исследуемых группах.

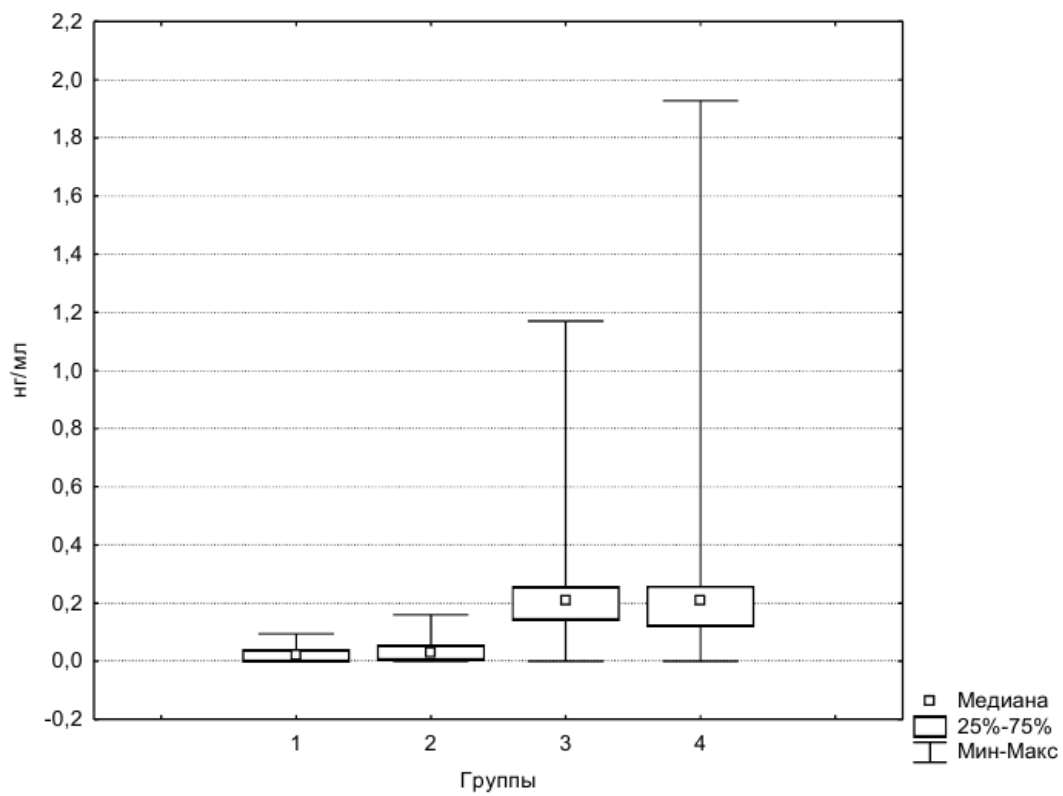


Рис. 2. Диаграмма размаха GFAP в четырех группах

Для маркера ММР-9 диаграмма размаха представлена на рисунке 3.

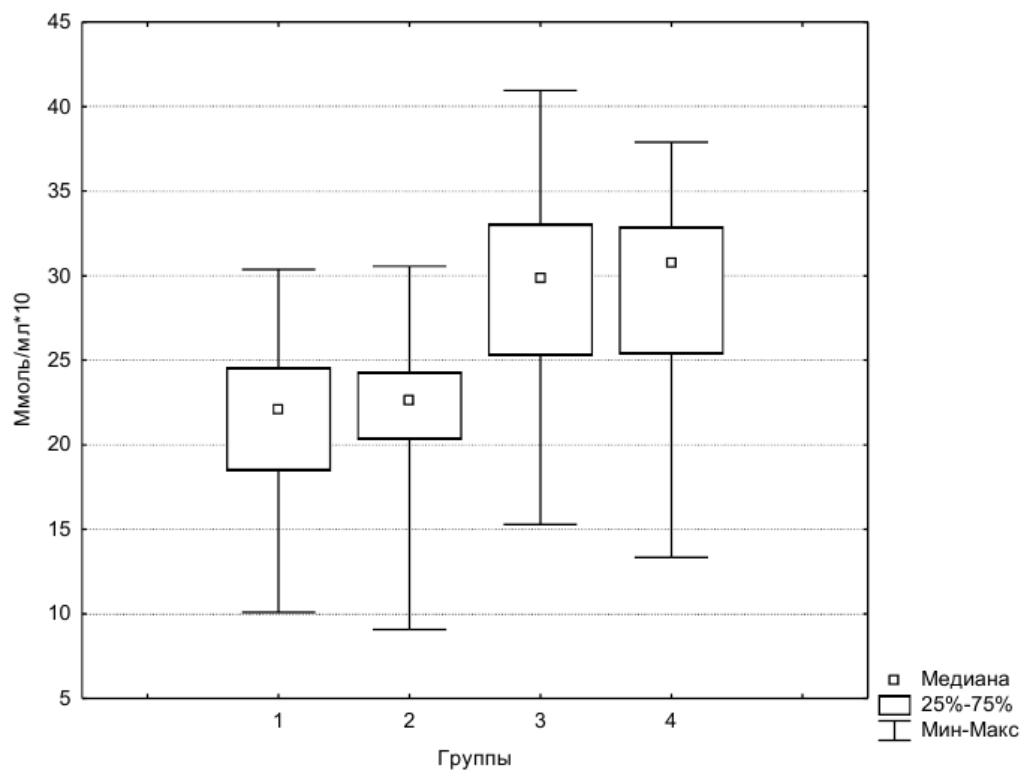


Рис. 3. Диаграмма размаха ММР-9 в четырех группах

По результатам проведенного Н-теста сделан вывод о различии показателей в 4-х группах. Наибольший интерес представляет сравнение 1–2, 2–3, 3–4 групп. Это было необходимо для оценки влияния МС на концентрацию маркеров. Н-тест, так же как и дисперсионный анализ, не показывает, между какими именно группами присутствуют различия, поэтому проведено сравнение с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Манна – Уитни (в соответствии с законом распределения величины в группе) [9]. Результаты проведенных тестов приведены в таблице 2.

Таблица 2

Значения t-критерия Стьюдента\* и U-критерия Манна – Уитни\*\* для 1, 2, 3 и 4 групп в соответствии с распределением признака в группах

Признак	1 и 2 группы	2 и 3 группы	3 и 4 группы
NSE	469,5, p=0,005**	-6,718, p<0,01*	761,5, p=0,76**
GFAP	590,0, p=0,13**	106,5, p<0,01**	787,5, p=0,96**
MMP-9	-0,501, p=0,518*	236,0, p<0,01**	657,5, p=0,19**

Из данных Таблицы 2 следует: 1) в 1 и 2 группах есть статистически значимые различия концентраций NSE, в то время как различия концентраций GFAP и MMP-9 не значимы; 2) между 2 и 3 группами статистически значимы различия концентраций GFAP и MMP-9, в то время как концентрации NSE не имеют статистически значимых различий, т.е. у пациентов с МС уровень NSE выше, чем у здоровых людей, и соответствует уровню NSE у пациентов с инсультом; 3) значимых различий концентраций маркеров между 3 и 4 группами нет.

Маркеры GFAP и MMP-9 не показали различий у пациентов с МС и участников контрольной группы. Различия были значимы между парами групп, где произошел инсульт (3 и 4 группы) и где не было острого нарушения мозгового кровообращения (1 и 2 группы).

Полученные нами результаты у пациентов с МС имеют следующее объяснение. Компоненты МС (артериальная гипертензия, дислипидемия, абдоминальное ожирение инсулинорезистентность) приводят к хроническому провоспалительному статусу и постоянной циркуляции цитокинов, в том числе и фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$ ). Это приводит к эндотелиальной дисфункции и патологической проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Артериальная гипертензия и дислипидемия поражают артерии малого калибра головного мозга, что ведет к нарушению метаболических процессов в ближайших астроцитах и нейронах. Атеросклеротическое изменение сосудов приводит к хронической гипоксии. Помимо этого, плазма с большими количествами цитокинов просачивается через поврежденный ГЭБ, основную роль среди которых играет TNF $\alpha$ . TNF $\alpha$  индуцирует повышенный выброс глутамата, что приводит к эксайтотоксичности и

нарушению кальциевого тока в нейронах. Помимо этого, запущенные гипоксией процессы перекисного окисления липидов, митохондриальные дисфункции, нарушение энергетического метаболизма запускают нейрональный апоптоз. Это приводит к разрушению нейрона и выходу NSE в кровоток [2]. При острых ишемических поражениях головного мозга развивается некроз клеток, но при «мягкой» ишемии клетки погибают за счет апоптоза [2]. При этом количество клеток в состоянии апоптоза максимально увеличивается через 24–48 часов после ишемии, и процессы апоптоза поддерживаются еще около 4 недель [2]. Этим объясняется примерно «постоянная» концентрация NSE у пациентов с МС.

В ответ на ишемию астроциты отвечают синтезом hupoxiafactor 1, что повышает их резистентность к ишемии и предотвращает апоптоз и выход GFAP в кровоток. Однако у пациентов с МС присутствует глиоз головного мозга в ответ на дислипидемию и высокую концентрацию холестерина. Глиоз и постоянное реактивное состояние глии в ответ на дислипидемию ведут к истощению астроцитов. Поэтому они не запускают воспалительный каскад и не повышают концентрацию MMP-9. Также высокие концентрации TNF  $\alpha$  подавляют запуск MMP-9. Активные воспалительные реакции могут отсутствовать ввиду отсутствия очага некроза, а диффузный апоптоз таковых не вызывает [2].

**Заключение.** Из результатов нашего исследования следует вывод о бессимптомном ишемическом повреждении церебральных нейронов и нарушении целостности ГЭБ у пациентов с МС [2]. Значительный выход NSE через поврежденные плазматические мембраны клеток мозга свидетельствует об интенсивности нейрональной деструкции. Отсутствие повышения уровня GFAP у участников 2 группы мы связываем с угнетающим действием хронической ишемии и нарушением липидного обмена на астроцитарные клетки и отсутствием некротического очага. Значимые различия MMP-9 у пациентов с МС и пациентами с инсультом объясняются отсутствием острого процесса во 2 группе.

Нейроспецифические маркеры у пациентов с МС до манифестации острого нарушения мозгового кровообращения определялись впервые. Чтобы сопоставить полученные результаты с данными литературы, необходимо продолжить исследования, используя методы нейровизуализации и определение нейроспецифических маркеров.

### Список литературы

1. Есенбаева Г.Т., Жаутикова С.Б., Миндубаева Ф.А., Кадырова И.А. Методика прогнозирования вероятности возникновения инсульта /Г.Т. Есенбаева [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – № 3. – С.51-54.

2. Кадырова И.А. Разработка математической модели вероятности развития острого нарушения мозгового кровообращения у пациентов с метаболическим синдромом: дис. ... доктора PhD. – Караганда, 2016. – С. 62-72.
3. Michiel Sala, Albert de Roos, Annette van den Berg, Irmhild Altmann-Schneider, P. Eline Slagboom, Rudi G. Westendorp. Microstructural Brain Tissue Damage in Metabolic Syndrome Diabetes Care // 2013. Oct. 2. doi: 10.2337/dc13-1160.
4. Bokura H., Yamaguchi S., Iijima K., Nagai A., Oguro H. Metabolic Syndrome Is Associated With Silent Ischemic Brain Lesions // Stroke. 2008. No. 39(5). P. 1607-1609.
5. Matthew B. Maas, Karen L. Furie Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis // Biomarkers in Medicine. 2009. № 4. P. 363-375.
6. Кадырова И.А., Миндубаева Ф.А., Гржибовский А.М. Систематический обзор методов прогнозирования исхода мозгового инсульта // Экология человека. – 2015. – № 10. – С.55-64.
7. Carlos Lorenzo, Ken Williams, Kelly J. Hunt. The National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization Definitions of the Metabolic Syndrome as Predictors of Incident Cardiovascular Disease and Diabetes // Diabetes Care. 2007. No. 30(1). P.8-13.
8. Гржибовский А.М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека. – 2008. – № 3. – С.55-64.
9. Койчубеков Б.К. Основы статистического анализа медико-биологических данных. – Караганда: КГМУ, 2007. – 52 с.