

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКОМ ПОДТИПЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Рябченко А.Ю.¹, Долгов А.М.¹, Денисов Е.Н.¹

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России», Оренбург, e-mail: nevrolog2007@inbox.ru

Цель: выявить изменения уровня эндотелина-1 и стабильных метаболитов оксида азота и сопоставить выявленные показатели с тяжестью неврологического дефицита у пациентов с кардиоэмболическим подтипом ишемического инсульта. Проведено исследование 33 пациентов мужского и женского пола с диагнозом «ишемический инсульт кардиоэмболического подтипа». Всем пациентам проводилась компьютерная томография или магнитно-резонансная томография головного мозга, изучалось мозговое кровообращение с помощью дуплексного сканирования артерий шеи и головы, проводились эхокардиография, а также общеклинические методы исследования, неврологические и офтальмологические обследования, неврологический дефицит оценивался с использованием баллов по шкале NIHSS. Уровни оксида азота определяли с использованием метода оценки стабильных метаболитов в сыворотке крови. Для определения уровня эндотелина-1 применяли иммуноферментный метод. Все обследованные пациенты были разделены на 3 подгруппы в зависимости от тяжести неврологического дефицита. У пациентов с кардиоэмболическим подтипом ишемического инсульта были выявлены нарушения эндотелийзависимых механизмов регуляции сосудистого тонуса. Снижение уровней стабильных метаболитов оксида азота и повышение уровня эндотелина-1 были связаны с тяжестью неврологического дефицита. Таким образом, развивающаяся эндотелиальная дисфункция играет ключевую роль в прогрессировании неврологической симптоматики при кардиоэмболическом подтипе ишемического инсульта, а также служит основополагающим механизмом коморбидности сердечно-сосудистого континуума.

Ключевые слова: ишемический инсульт, кардиоэмболический подтип, эндотелиальная дисфункция, оксид азота, эндотелин-1.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION BIOMARKERS IN CARDIOEMBOLIC ISCHEMIC STROKE

Ryabchenko A.Yu.¹, Dolgov A.M.¹, Denisov E.N.¹

¹»Orenburg State Medical University Ministry of Health of Russia», Orenburg, e-mail: nevrolog2007@inbox.ru

To identify changes in the level of endothelin-1 and stable nitric oxide metabolites and to compare the revealed indicators with the severity of neurological deficiency in patients with cardioembolic subtype of ischemic stroke. A study of 33 male and female patients diagnosed with ischemic stroke cardioembolic subtype was conducted. All patients underwent computer or magnetic resonance imaging of the brain, cerebral blood flow was examined using extra and transcranial ultrasound Dopplerography, central hemodynamics was evaluated using echocardiography, general clinical research methods, neurological and neuro-ophthalmological examination were performed, neurological status was assessed according to the NIHSS scale (Stroke Scale of the National Institute of Health). To assess the level of nitric oxide, a method was used to determine its stable metabolites in the blood serum – nitrites and nitrates. The level of endothelin-1 was determined by enzyme immunoassay. All the studied patients were divided into 3 subgroups according to the severity of neurological deficit. In patients with cardioembolic subtype of ischemic stroke, disorders in endothelium-dependent mechanisms of vascular regulation were observed. A decrease in the level of persistent nitric oxide metabolites and an increase in endothelin-1 levels were correlated with the severity of the disease and the severity of neurological deficiency. Thus, developing endothelial dysfunction plays a key role in the progression of neurological symptoms in the cardioembolic subtype of ischemic stroke, as well as the underlying mechanism of comorbidity of the cardiovascular continuum.

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

Введение. В настоящее время особое внимание привлекает проблема поиска предикторов инсульта, это связано с сохранением высоких показателей смертности и

инвалидизации, несмотря на достижения в диагностике и лечении этого клинического синдрома [1]. В Российской Федерации выявляется около полумиллиона случаев инсульта в год, при этом ишемический инсульт (ИИ) встречается в 4 раза чаще, чем геморрагический [2]. При условии сохранения текущих тенденций уже к 2050 г. можно ожидать, что в мире будет не менее 200 млн пациентов с перенесенным инсультом [3]. Кроме того, учитывая высокую распространенность инсульта, тенденции к старению населения, крайне важно понимать, как можно повлиять на профилактику цереброваскулярной патологии и изменение демографической ситуации. Совершенствование методов оказания медицинской помощи при инсульте не может быть достигнуто без выяснения этиопатогенетических механизмов его развития. Выявление патофизиологических процессов, лежащих в основе возникновения острых цереброваскулярных событий, имеет ключевое значение для осуществления мероприятий, направленных на вторичную профилактику инсульта. В настоящее время с клинико-патогенетической позиции определяют следующие подтипы ИИ: атеротромботический, кардиоэмболический (КЭ), лакунарный, неопределенный [4, 5]. В связи с высокой распространенностью сердечно-сосудистой патологии особого внимания специалистов требуют особенности развития КЭ подтипа ИИ. Причины и источники эмболий при КЭ подтипе ИИ представлены различной сердечно-сосудистой патологией, прежде всего фибрилляцией предсердий и клапанными пороками [6]. Во многом предпосылкой к развитию некоторых из этих патологических состояний является эндотелиальная дисфункция (ЭД) [7]. Известно, что эндотелий сосудов выполняет важные функции, такие как: управление гемостазом, поддержание нормальной проницаемости сосудов, регуляция иммунологических реакций и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, контроль сосудистого тонуса [8]. При этом регуляция этих функций, прежде всего, связана с метаболизмом оксида азота (NO) и эндотелина-1 (Э-1) [9, 10, 11]. Нарушения, связанные с расстройством гомеостаза в эндотелии, называются «эндотелиальная дисфункция» (ЭД). Несмотря на определенные достижения в современной эндотелиологии при различной соматической патологии, в настоящее время недостаточно информации о роли изменений функций эндотелия при развитии КЭ подтипа ИИ.

Цель исследования. Выявить изменения уровней Э-1 и стабильных метаболитов оксида азота (NOx) и соотнести полученные результаты с выраженностью неврологической симптоматики у пациентов с КЭ подтипом ИИ.

Материалы и методы исследования

Для исследования были отобраны 33 пациента в остром периоде КЭ подтипа ИИ, которые находились на лечении в первичном сосудистом неврологическом отделении. При поступлении в стационар пациентам проводилось исследование согласно действующим

стандартам и клиническим рекомендациям. КЭ подтип ИИ устанавливался согласно критериям международной классификации патогенетических подтипов ИИ (SSS-TOAST):

- 1) имеется источник эмболии из сердца с высоким или средним риском;
- 2) по данным нейровизуализации (КТ головного мозга или МРТ головного мозга) выявляется повреждение коры головного мозга, мозжечка или обнаруживается субкортикальный полушарный инфаркт более 1,5 см в диаметре;
- 3) имеются предшествующие транзиторные ишемические атаки (ТИА) или ИИ в более чем одном артериальном бассейне;
- 4) исключена потенциальная артерио-артериальная эмболия;
- 5) ИИ у пациентов со средним риском кардиальной эмболии при отсутствии других причин расценивался как кардиоэмболический патогенетический подтип [12].

В исследование не включали пациентов со следующими заболеваниями и состояниями: ТИА; внутричерепное кровоизлияние; геморрагическая трансформация ИИ; поздняя госпитализация пациента (более чем через 24 часа от начала развития симптоматики); применение тромболитической терапии; опухоли головного мозга; нейродегенеративные заболевания; инфаркт миокарда; тромбоэмболия легочной артерии; злокачественная артериальная гипертензия; декомпенсация соматической патологии; тяжелые формы гематологических, онкологических и эндокринных заболеваний, а также тяжелые психические расстройства; острые и хронические инфекционные болезни в стадии обострения, женщин до наступления менопаузы. От всех участников было получено письменное информированное согласие на проведение исследования. В контрольную группу включены 20 пациентов с хронической недостаточностью мозгового кровообращения без инсульта в анамнезе, сопоставимых по возрасту и половому составу. Неврологический статус оценивали в ходе клинического осмотра, степень неврологического дефицита определяли с помощью шкалы инсульта Национального института здоровья США (NIHSS). Неврологический статус оценивали при поступлении и на 2-е сутки госпитализации. С учетом выраженности неврологической симптоматики вся исследуемая группа больных была подразделена на три подгруппы. В подгруппу с легким неврологическим дефицитом вошли пациенты, имевшие от 3 до 7 баллов по шкале NIHSS; с умеренным – пациенты с 8–12 баллами по шкале NIHSS; с выраженным – пациенты с 13 и более баллами по шкале NIHSS. Для определения Э-1 в плазме крови у пациентов использовали набор для количественного определения эндотелина 1–21 в биологических жидкостях Endothelin 1–21 (RnD Systems) методом иммуноферментного анализа (ИФА) [13]. Для оценки уровня оксида азота (NO) использовали метод определения в плазме крови суммарной концентрации NOx – по реакции их восстановления в присутствии хлорида ванадия (VCl₃) и реакции диазотирования

сульфаниламида (с реактивом Грисса) при предварительном восстановлении нитрат-ионов в нитрит [14]. Для ограничения влияния поступления экзогенных нитратов с пищей всем пациентам предварительно назначалась низконитратная диета. Все полученные результаты были обработаны с помощью программы Microsoft Excel 2019. Данные представлены как средняя арифметическая величина и стандартная ошибка средней ($M \pm m$), со статистически значимыми различиями при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Основную группу составляли 23 мужчины и 10 женщин в возрасте от 40 до 79 лет, средний возраст составил $61 \pm 5,53$ года. При анализе неврологического статуса пациентов с КЭ подтипом ИИ выявлено преобладание симптоматики со стороны пирамидной системы в виде центральных парезов и параличей, которые наблюдались у 25 пациентов. Расстройство речи в виде моторной, сенсорной или смешанной форм афазии и дизартрии обнаруживалось у 9 больных; бульбарный синдром – у 5 пациентов; псевдобульбарный синдром – у 4 пациентов; расстройство чувствительности в виде гемигипестезии или альтернирующей гемигипестезии – у 21 пациента; мозжечковая атаксия – у 4 пациентов; нарушение сознания в виде оглушения или сопора – у 3 пациентов; нарушения полей зрения в виде гомонимной гемианопсии – у 3 больных. Проведен анализ сердечно-сосудистых факторов риска, при этом выявлено, что наиболее часто встречалась артериальная гипертензия – у 28 пациентов, нестенозирующий атеросклероз – у 27 пациентов, фибрилляция предсердий – у 26 пациентов, митральный порок сердца – у 8 пациентов, кардиомиопатия – у 3 пациентов, аортальный стеноз – у 2 пациентов. Оценка выраженности неврологической симптоматики показала, что средний балл по шкале NIHSS в подгруппе с легким неврологическим дефицитом составил $5 \pm 0,47$, в подгруппе с умеренным неврологическим дефицитом средний балл – $10,3 \pm 0,28$, а в подгруппе с выраженной симптоматикой средний балл составил $17,5 \pm 0,42$. В подгруппе с легким неврологическим дефицитом неврологический статус характеризовался наличием легкого гемипареза или монопареза и нарушения чувствительности в виде геми- или моноаналгезии, а также изолированной или сочетанной с другими расстройствами дизартрией. В подгруппе пациентов с умеренным неврологическим дефицитом неврологический статус характеризовался наличием симптоматики в виде различных сочетаний умеренного гемипареза, гемигипестезии, гемианопсии, афазии, дизартрии, атаксии, псевдобульбарного синдрома и геминеглекта. В подгруппе пациентов с выраженным неврологическим дефицитом выявлены грубые нарушения неврологического статуса в виде симптоматики глубокого гемипареза или гемиплегии, тотальной афазии, бульбарного синдрома, дезориентации в собственной личности и нарушения сознания. Кроме того, в подгруппе пациентов с выраженным неврологическим дефицитом определялось большее количество различных

комбинаций сердечно-сосудистых факторов риска и ассоциированных клинических состояний по сравнению с подгруппами пациентов с легким и умеренным неврологическим дефицитом.

Результаты исследования показали, что при КЭ подтипе ИИ наблюдаются нарушения гомеостаза в эндотелии сосудов, характеризующиеся изменением уровня NOx. На рисунке 1 представлены данные изменения уровня NOx у пациентов с КЭ подтипом ИИ с различной степенью выраженности неврологической симптоматики.

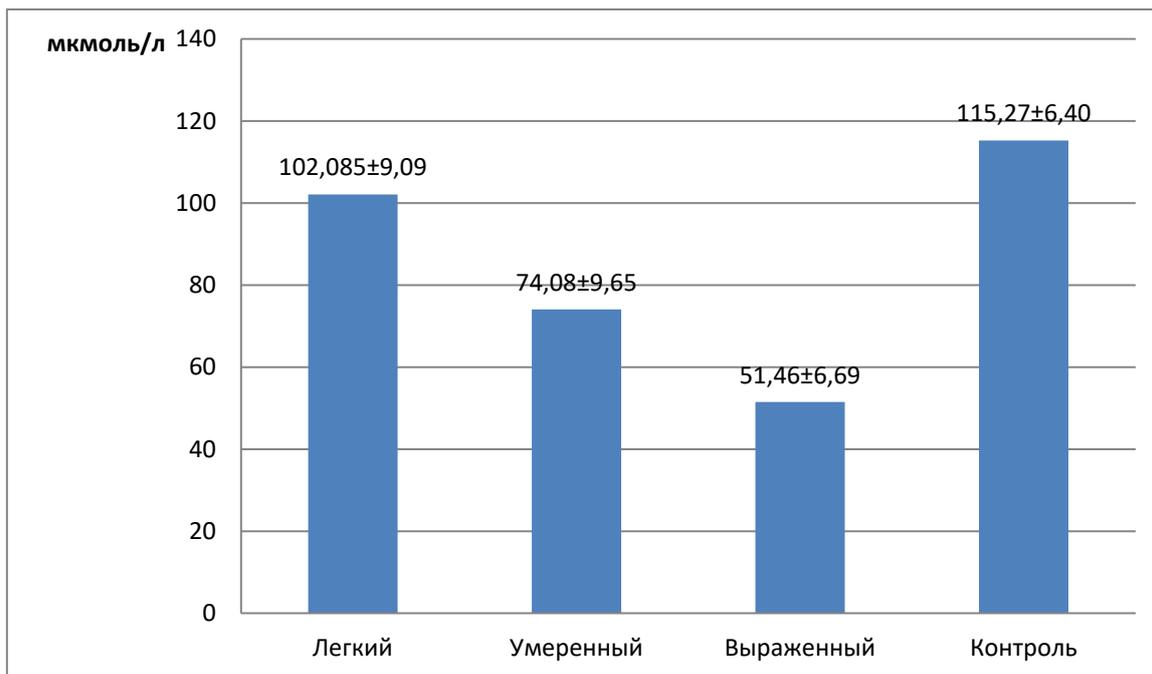


Рис. 1. Уровень NOx у пациентов с кардиоэмболическим подтипом ишемического инсульта в зависимости от степени выраженности неврологического дефицита

У пациентов с КЭ подтипом ИИ с легкой степенью неврологической симптоматики выявлялось статистически значимое по сравнению с контрольной группой снижение уровня NOx – на 11,4% ($p=0,04$), что свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции в этой подгруппе. У пациентов с умеренным неврологическим дефицитом отмечалось более выраженное снижение уровня NOx – на 35,7% ($p=0,036$) – по сравнению с контрольной группой, что демонстрирует нарастание нарушений в метаболизме NO и усугубление дисрегуляции эндотелиальной функции в данной группе пациентов. Механизмы, связанные с расстройством управления сосудистым тонусом, лежащие в основе патогенеза ИИ, претерпевают существенные изменения. Так, у пациентов с тяжелым течением КЭ подтипа ИИ наблюдаются ограничения вазодилататорного потенциала эндотелия в поддержании церебрального кровотока. Это связано с дефицитом выработки NO в эндотелии, что

подтверждается полученными результатами – более значительное падение уровня NOx (на 55,7% ($p=0,0018$)) по сравнению с контрольной группой. В целом дефицит выработки NO приводит к увеличению зоны недостаточной перфузии и нарастанию ишемического повреждения мозговой ткани. Одновременно с выявленным дефицитом вазодилаторного маркера ЭД у пациентов с КЭ подтипом ИИ обнаруживаются повышение в вазоконстрикторных реакциях, опосредованных увеличением синтеза Э-1, что способствует прогрессированию неврологической симптоматики и увеличению развившегося очага ишемии. На рисунке 2 представлены изменения уровня Э-1 при кардиоэмболическом подтипе ИИ с различной степенью выраженности неврологического дефицита.

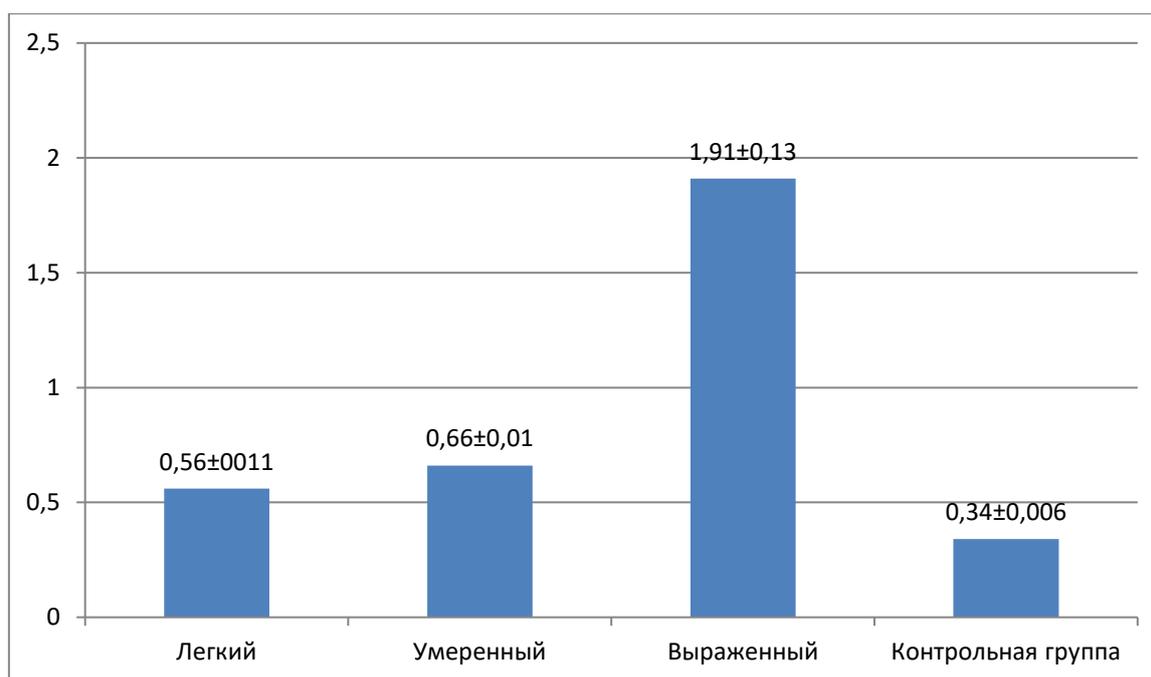


Рис. 2. Уровень Э-1 у пациентов с кардиоэмболическим подтипом ишемического инсульта в зависимости от степени выраженности неврологического дефицита

У пациентов с КЭ подтипом ИИ с легким неврологическим дефицитом выявлено статистически значимое повышение уровня Э-1 (на 64,7%) по сравнению с контрольной группой ($p=0,027$), свидетельствующее о наличии ангиоспастических реакций, которые ограничивают компенсаторные возможности ауторегуляции мозгового кровотока. В подгруппе пациентов с умеренным неврологическим дефицитом выявлено еще более статистически значимое повышение уровня Э-1 (на 94,1%), чем в контрольной группе ($p=0,015$), что отражается в расширении зоны ишемии и увеличении неврологического дефицита. Уровень Э-1 в подгруппе пациентов с КЭ инсультом с выраженным неврологическим дефицитом был более чем в 5,6 раза выше, чем в контрольной группе ($p=0,039$), что в конечном итоге приводит к развитию стойкого вазоспазма, повлекшего за собой нарастание неврологического дефицита. Все это свидетельствует, что при КЭ подтипе

ИИ, помимо основного механизма развития ишемического повреждения в виде кардиоэмболии, возникают вазоконстрикторные реакции, которые способствуют расширению зоны ишемического повреждения и нарастанию выраженности неврологической симптоматики. Выявленные разнонаправленные изменения уровня маркеров ЭД в виде снижения уровня NOx и повышение Э-1 по мере нарастания неврологического дефицита демонстрируют развитие дисбаланса в регуляции сосудистого тонуса у пациентов в остром периоде ИИ КЭ подтипа. Обнаруженное при исследовании снижение уровня NO в крови способствует ограничению вазодилаторного потенциала мозговых сосудов, повышает миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов, ограничивает ангиогенез и способствует развитию атеросклероза в магистральных сосудах, как в головном мозге, так и в других органах, и, таким образом, потенцирует развитие церебральной ишемии. Повышение концентрации Э-1 в крови приводит к вазоконстрикции, усилению процессов митогенеза, пролиферации ГМК и фиброзу интимы, что вызывает стойкое ремоделирование церебральных артерий и таким способом способствует увеличению зоны ишемического поражения головного мозга и соответственно прогрессированию неврологической симптоматики у пациентов с КЭ подтипом ИИ.

Заключение. Авторами было обнаружено достоверное по сравнению с контрольной группой снижение стабильных метаболитов оксида азота, наиболее выраженное у пациентов с тяжелым неврологическим дефицитом, ограничивающее вазодилаторные реакции эндотелия. Было выявлено достоверное по сравнению с контрольной группой повышение уровня Э-1, более значимое при тяжелом течении КЭ подтипа ИИ, отражающее преобладание вазоконстрикторных реакций. Таким образом, развивающаяся ЭД играет ключевую роль в прогрессировании неврологической симптоматики при КЭ подтипе ИИ и является основополагающим механизмом формирования коморбидности сердечно-сосудистого континуума.

Список литературы

1. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J., Huffman M.D., Isasi C.R., Jiménez M.C., Judd S.E., Kissela B.M., Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Magid D.J., McGuire D.K., Mohler E.R. 3rd, Moy C.S., Muntner P., Mussolino M.E., Nasir K., Neumar R.W., Nichol G., Palaniappan L., Pandey D.K., Reeves M.J., Rodriguez C.J., Rosamond W., Sorlie P.D., Stein J., Towfighi A., Turan T.N., Virani S.S., Woo D., Yeh R.W., Turner M.B.; American Heart Association Statistics Committee; Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A

Report From the American Heart Association // *Circulation*. 2016. Vol. 133. Is. 4. P. 38-360. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000350.

2. Диденко Н.Н., Денисюк В.В., Потапова И.Г., Карпов С.М. Актуальные вопросы распространенности ОНМК в Ставропольском крае // *Успехи современного естествознания*. 2014. № 6. С. 121-122.

3. Hankey Graeme J. Population impact of potentially modifiable risk factors for stroke // *Stroke* 2020. Vol. 51. P. 719-728. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.024154.

4. Парфенов В.А., Вербицкая С.В. Факторы риска и патогенетические подтипы ишемического инсульта // *Атеротромбоз*. 2012. № 1. С. 16-25.

5. Клинические рекомендации: Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака у взрослых. Национальная ассоциация по борьбе с инсультом, Всероссийское общество неврологов, Ассоциация нейрохирургов России МОО Объединение нейроанестезиологов и нейрореаниматологов, Союз реабилитологов России. 2021. С. 7-94.

6. Тибекина Л.М., Дорофеева М.С., Щербук Ю.А. Кардиоэмболический инсульт: этиология, патогенез, факторы риска геморрагической трансформации (обзор) // *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2014. № 1. С. 104-117.

7. Daiber A., Steven S., Weber A., Shuvaev V.V., Muzykantov V.R., Laher I., Li H., Lamas S., Münzel T.. Targeting vascular (endothelial) dysfunction // *Br J. Pharmacol*. 2017. Vol. 174. Is. 12. P. 1591-619. DOI: 10.1111/bph.13517.

8. Roumenina L.T., Rayes J., Frimat M., Fremeaux-Bacchi V. Endothelial cells: source, barrier, and target of defensive mediators // *Immunol Rev*. 2016 Vol. 274. Is.1. P. 307-329. DOI: 10.1111/imr.12479.

9. Incalza M.A., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., Laviola L., Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases // *Vascul Pharmacol*. 2018. Vol. 100. P. 1-19. DOI: 10.1016/j.vph.2017.05.005.

10. Cyr A.R., Huckaby L.V., Shiva S.S., Zuckerbraun B.S. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction // *Crit Care Clin*. 2020. Vol. 36. Is. 2. P. 307-321. DOI: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.

11. Khimji A.K., Rockey D.C. Endothelin--biology and disease // *Cell Signal*. 2010 Vol. 22. Is. 11. P. 1615-25. DOI: 10.1016/j.cellsig.2010.05.002.

12. Ay H., Benner T., Arsava E.M., Furie K.L., Singhal A.B., Jensen M.B., Ayata C., Towfighi A., Smith E.E., Chong J.Y., Koroshetz W.J., Sorensen A.G. A computerized algorithm for etiologic classification of ischemic stroke: the Causative Classification of Stroke System // *Stroke*. 2007. Vol. 38. Is. 11. P. 2979-84. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.490896.

13. Palomares S.M., Cipolla M.J. Myogenic tone as a therapeutic target for ischemic stroke // *Curr Vasc Pharmacol*. 2014. Vol. 12. Is. 6. P. 788-800. DOI: 10.2174/15701611113116660155.

14. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 6. С. 15.