

## ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ОСТРОГО ПОСТИНСУЛЬТНОГО ПЕРИОДА

С.А. Зозуля<sup>1</sup>, И.Н. Отман<sup>1</sup>, А.С. Чуканова<sup>2</sup>, Т.П. Ключник<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

## FEATURES OF THE DYNAMICS OF INFLAMMATION AND APOPTOSIS MARKERS IN PATIENTS WITH DIFFERENT ACUTE POST-STROKE PERIOD

S.A. Zozulya<sup>1</sup>, I.N. Otman<sup>1</sup>, A.S. Chukanova<sup>2</sup>, T.P. Klyushnik<sup>1</sup>

Mental Health Research Center, Moscow, Russia;

Pirogov Russian Research University, Moscow, Russia

**Целью** настоящей работы явилось изучение динамики маркеров воспаления и апоптоза в сыворотке крови пациентов с ишемическим инсультом в раннем постинсультном периоде. **Материалы и методы.** Обследовано 22 пациента (средний возраст  $60 \pm 5,5$  лет) с различной динамикой неврологической симптоматики в остром постинсультном периоде. Пациентов обследовали дважды: в 1-е и 10-е сутки наблюдения. Количественную оценку выраженности неврологического дефицита осуществляли по шкалам ESS и NIHSS. В сыворотке крови определяли активность энзиматическую активность лейкоцитарной эластазы, функциональную активность  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора, уровень аутоантител к ОБМ (маркеры воспаления), а также содержание белков p53 и Bcl-2 (маркеры апоптоза). Контрольную группу составили 35 соматически здоровых людей соответствующего возраста и пола. **Результаты.** Выявлены различные спектры анализируемых маркеров воспаления и апоптоза у пациентов с положительной и отрицательной динамикой неврологической симптоматики в остром периоде ишемического инсульта, оцененной по шкалам ESS и NIHSS. Наблюдаемые клинико-биологические взаимосвязи отражают особенности течения раннего постинсультного периода и могут рассматриваться в качестве возможных предикторов траектории развития острой ишемии мозга.

**Ключевые слова:** ишемический инсульт; лейкоцитарная эластаза;  $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор; белок p53; белок Bcl-2.

**The purpose** of this was to study the dynamics of markers of inflammation and apoptosis in the serum of patients with ischemic stroke in the early post-stroke period. **Materials and methods.** The study involved 22 patients (mean age  $60 \pm 5.5$  years) with different dynamics of neurological symptoms in the acute post-stroke period. Patients were examined twice: on the 1st and 10th day of observation. Quantitative assessment of the severity of neurological deficit using ESS and NIHSS scales was carried. Enzymatic activity of leukocyte elastase, functional activity of  $\alpha 1$ -proteinase inhibitor, level of autoantibodies to MBP (inflammatory markers), as well as the content of p53 and Bcl-2 proteins (markers of apoptosis) were determined in serum. The control group consisted of 35 somatically healthy people of the appropriate age and sex. **Results.** Identified the different features of the spectrum of the analyzed markers of inflammation and apoptosis in patients with positive and negative dynamics of neurological symptoms in the acute period of ischemic stroke assessed according to the ESS and NIHSS scales. The observed clinical and biological relationships reflect the features of the course of the early post-stroke period and can be considered as possible predictors of the development trajectory of acute brain ischemia.

**Keywords:** ischemic stroke; leukocyte elastase;  $\alpha 1$ -proteinase inhibitor; p53 protein; Bcl-2 protein.

**Введение.** Острый ишемический инсульт (ИИ) сохраняет высокую медицинскую и социальную значимость из-за устойчивой тенденции к снижению возраста начала заболевания, существенных экономических потерь в результате инвалидизации и высокой частоте смертности [1].

В патогенезе ИИ определяющее значение имеет каскад ишемических реакций, вклю-

чающий фокальный дефицит мозгового кровотока, эксцитотоксичность, окислительный стресс, воспаление, нарушение целостности ГЭБ и следующие за этим некроз и апоптоз нейронов, клеток глии и эндотелия. Процессы некроза с последующим воспалением запускаются в центральной, «ядерной» зоне ишемии в течении первых минут развития ИИ, в то время как генетически запрограммированные

апоптотические механизмы гибели клеток развиваются в зоне пенумбры отсрочено (в течение нескольких часов или суток) [2].

Важную роль в патогенезе ИИ и восстановлении нарушенного гомеостаза играет функциональное состояние иммунной системы, и в первую очередь, нейровоспалительные реакции, обусловленные активацией микроглии и повышением уровня провоспалительных цитокинов и других провоспалительных молекул. Воспалительные реакции в кровяном русле также сопровождаются повышением уровня маркеров воспаления (цитокинов, острофазных белков, протеаз) [3].

В связи с вышесказанным актуальным представляется поиск молекулярных предикторов траектории развития острой ишемии мозга для проведения адекватной персонализированной терапии.

**Целью** настоящей работы явилось изучение динамики маркеров воспаления и апоптоза в сыворотке крови пациентов с ИИ в раннем постинсультном периоде.

**Материалы и методы.** Обследовано 22 пациента в остром периоде ИИ (средний возраст  $60 \pm 5.5$  лет). Все пациенты получали соответствующую симптоматическую терапию. Объем очага поражения головного мозга определяли в 1-е сутки после развившегося ИИ с помощью МРТ.

Клинико-иммунобиохимическое обследование проводили дважды: в 1-е и 10-е сутки наблюдения. Количественную оценку выраженности неврологического дефицита осуществляли по шкалам ESS (European Stroke Scale) и NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale).

Иммунологическое исследование сыворотки крови включало определение активности/уровня воспалительных маркеров (энзиматической активности лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), функциональной активности  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha 1$ -ПИ), уровня аутоантител (аАТ)

к основному белку миелина (ОБМ)). В качестве маркеров апоптоза определяли содержание белков — регуляторов p53 и Bcl-2.

Контрольную группу составили 35 соматически здоровых людей соответствующего возраста и пола.

Активность ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ определяли спектрофотометрическим методом [4; 5] определение уровня аАТ к ОБМ [4], а также концентрацию p-53 и Bcl-2 — методом ИФА.

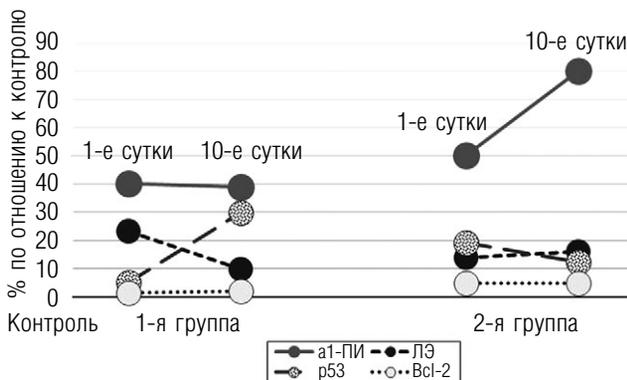
Статистическую значимость различий проводили непараметрическим методом с использованием критерия Манна — Уитни.

**Результаты и обсуждение.** В зависимости от динамики неврологической симптоматики, наблюдаемой к 10-м суткам острого периода ИИ, все пациенты были разделены на две группы: 1-я группа — с положительной динамикой неврологической симптоматики (по шкалам ESS и NIHSS), 2-я группа — с отрицательной динамикой или отсутствием каких-либо положительных изменений в клиническом состоянии. Выделенные группы достоверно отличались между собой по балльной оценке ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,01$ ), а также по объему очага ишемии ( $p < 0,05$ ). Однако, следует отметить значительный разброс данного показателя внутри групп, при этом некоторые показатели перекрывались.

В 1-е сутки развития острого ИИ в обеих группах пациентов отмечалось статистически значимое повышение активности ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$  и  $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). Наиболее высокая активность ЛЭ наблюдалась в 1-ой группе по сравнению со 2-й ( $p < 0,01$ ). В этой группе также выявлены повышенные значения уровня аАТ к ОБМ по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). 2-я группа характеризовалась более высокой функциональной активностью острофазного белка  $\alpha 1$ -ПИ на фоне умеренно повышенной активности ЛЭ, что, вероятно, отражает недостаточную функциональную активность нейтрофилов, которые, как известно, выполняют главную роль в восстановлении нарушенного гомеостаза вследствие повреждения ткани. Уровень аАТ к ОБМ в этой группе оставался в пределах нормы.

Концентрация белков p53 и Bcl-2 в крови пациентов обеих групп также превышала контрольные значения ( $p < 0,001$ ), однако, при межгрупповом сравнении более низкие значения были выявлены в 1-й группе пациентов ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,01$ ).

На 10-е сутки постинсультного периода динамика изучаемых показателей в выделенных группах оказалась различной (см. рис. 1). Так, в 1-ой группе наблюдалось достоверное снижение активности ЛЭ по отношению к 1-м суткам ( $p < 0,05$ ) (по-прежнему превышая контрольные значения) на фоне повышенной актив-



**Рис. 1.** Динамика маркеров воспаления и апоптоза у пациентов с различной динамикой неврологической симптоматики в раннем постинсультном периоде

ности  $\alpha 1$ -ПИ ( $p < 0,001$ ). Уровень аАТ к ОБМ снижался до контрольных значений ( $p < 0,05$ ). У пациентов 2-й группы изменений активности ЛЭ выявлено не было. В то же время показано существенное нарастание функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ как по сравнению с 1-ми сутками ( $p < 0,01$ ), так и с соответствующим показателем в 1-й группе ( $p < 0,05$ ).

К 10-м суткам выявлена также различная динамика маркера апоптоза p53: в 1-й группе его содержание достоверно повышалось по сравнению с 1-ми сутками ( $p < 0,001$ ), а во 2-й группе — снижалось ( $p < 0,0001$ ). Содержание Bcl-2 в обеих группах не изменялось, оставаясь повышенным ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, для обеих групп пациентов в 1-е сутки развития острого ИИ выявлена активация воспалительных реакций. Для пациентов с положительной динамикой неврологической симптоматики в постинсультный период характерна более значительная активация нейтрофилов — эффекторных клеток, активность которых способствует разрешению воспаления, а для пациентов с отрицательной динамикой — более высокая активность  $\alpha 1$ -ПИ (острофазного белка, синтезирующегося в ответ на повышение

уровня IL-6), сочетающаяся с умеренным повышением активности ЛЭ. Предположительно, недостаточная функциональная активность нейтрофилов в сочетании с высокой активностью  $\alpha 1$ -ПИ может быть следствием длительного текущего прединсультного патологического процесса в ишемизированной ткани. В пользу этого предположения может свидетельствовать также наблюдаемое более высокое содержание белка p53 в крови этих пациентов.

Вероятно, повышенные уровни аАТ у пациентов с положительной динамикой в 1-е сутки после инсульта могут рассматриваться в качестве благоприятного прогностического фактора, способствующего элиминации продуктов распада.

Таким образом, проведенное исследование выявило определенные спектры анализируемых маркеров воспаления и апоптоза у пациентов с различной динамикой неврологической симптоматики в остром периоде ИИ. Выявленные клиничко-биологические взаимосвязи отражают особенности течения раннего постинсультного периода и могут рассматриваться в качестве возможных предикторов траектории развития острой ишемии мозга.

### Литература

1. Скворцова В.И. Медицинская и социальная значимость ишемического инсульта // Качество жизни. Медицина. — 2004. — № 4(7). — С. 2–6. [Skvortsova VI. Medicinskaya i social'naya znachimost' ishemicheskogo insul'ta. *Kachestvo zhizni. Medicina*. 2004;4(7):2-6. (In Russ.)]
2. Arumugam TV, Baik S-H, Balaganapathy P, et al. Notch signaling and neuronal death in stroke. *Prog Neurobiol*. 2018;165-167:103-116. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.03.002>. Epub 2018 Mar 21.
3. Jiang C, Kong W, Wang Y, et al. Changes in the cellular immune system and circulating inflammatory markers of stroke patients. *Oncotarget*. 2017;10(8(2)):3553-3567. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12201>.
4. Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным  $\alpha 1$ -протеиназным ингибитором по ее энзиматической активности с синтетическим субстратом // Вопр. Мед. Хим. — 1994. — № 40(3). — С. 20–25. [Docenko VL, Neshkova EA, Yarovaia GA. Vyyavlenie lejkocitarnoj ehlastazy cheloveka iz kompleksa s plazmennym  $\alpha 1$ -proteinaznym ingibitorom po eyo ehnzimaticheskoj aktivnosti s sinteticheskim substratom. *Vopr. Med. Him*. 1994;(40(3)):20-25. (In Russ.)]
5. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности альфа-1-антитрипсина и альфа-2-макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопр. Мед. Хим. — 1979. — № 25(4). — С. 494–499. [Nartikova VF, Pashkina TS. Unificirovannyj metod opredeleniya aktivnosti alfa-1-antitripsina i alfa-2-makroglobulina v syvorotke (plazme) krovi cheloveka. *Vopr. Med. Him*. 1979;(25(4)):494-499. (In Russ.)]
6. Ключник Т.П., Андросова Л.В., Зозуля С.А., и др. Сравнительный анализ воспалительных маркеров при эндогенных и непсихотических психических расстройствах // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. — 2018. — № 2(99). — С. 64–69. [Klyushnik TP, Androsova LV, Zozulya SA, et al. Sravnitel'nyj analiz vospalitel'nyh markerov pri ehndogennyh i nepсихотических psichicheskikh rasstrojstvah. *Sibirskij vestnik psichiatrii i narkologii*. 2018;(2(99)):64-69. (In Russ.)]