

**ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭНДОТЕЛИНА-1, С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА И ИНТЕНСИВНОСТИ
ДЕСКВАМАЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ
В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ**

О.А. ЛЕВАШОВА, И.Г. ЗОЛКОРНЯЕВ

Пензенский институт усовершенствования врачей - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Стасова, 8А, Пенза, 440060, Россия

Аннотация. Целью настоящего исследования было изучение зависимости между содержанием в сыворотке крови эндотелина-1, С-реактивного белка, циркулирующих эндотелиоцитов и тяжестью ишемического инсульта, а также их прогностической значимости. Обследовано 88 больных ишемическим инсультом различной степени тяжести в острой стадии заболевания. Анализ концентрации эндотелина-1 в зависимости от исхода заболевания показал статистически значимые отличия между группами пациентов: у больных с летальным исходом уровень пептида был выше. Изучение уровня С-реактивного белка у больных ишемическим инсультом различной степени тяжести показало повышение изучаемого показателя, что свидетельствует о развитии воспалительной реакции. Оценка интенсивности десквамации эндотелия по уровню циркулирующих эндотелиоцитов выявила достоверное повышение уровня циркулирующих эндотелиоцитов у больных с тяжелым течением ишемического инсульта и неблагоприятным исходом заболевания. Повышение концентрации эндотелина-1 и интенсивности десквамации эндотелия свидетельствует о выраженной эндотелиальной дисфункции у больных в острой стадии ишемического повреждения. Использование комплекса показателей позволяет дополнить информацию о функциональном состоянии ткани мозга в остром периоде ишемического инсульта и позволяет прогнозировать исход заболевания.

Ключевые слова: ишемический инсульт, прогноз, эндотелиальная дисфункция, воспаление

**ASSESSMENT OF THE LEVEL OF ENDOTHELIN-1, C-REACTIVE PROTEIN AND INTENSITY
ENDOTHELIUM DESQUAMATION IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE
IN THE SHARP PERIOD**

O.A. LEVASHOVA, I.G. ZOLKORNYAEV

Penza Institute for Advanced Medical Studies - Branch of the Federal State Budgetary Educational Institution of Continuing Professional Education "Russian Medical Academy of Continuing Professional Education" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Stasov Str., 8A, Penza, 440060, Russia

Abstract. The research purpose was to study the relationship between the content of endothelin-1 in serum, C-reactive protein, circulating endotheliocytes and the severity of ischemic stroke, as well as their prognostic value. 88 patients with ischemic stroke of varying severity in the acute stage of the disease were examined. Analysis of the concentration of endothelin-1 depending on the outcome of the disease showed statistically significant differences between groups of patients: in patients with a fatal outcome, the level of peptide was higher. Studying the level of C-reactive protein in patients with ischemic stroke of varying severity showed an increase in the studied parameter, which indicates the development of an inflammatory response. An assessment of the desquamation intensity of endothelium by the level of circulating endotheliocytes revealed a significant increase in the level of circulating endotheliocytes in patients with severe ischemic stroke and an unfavorable outcome of the disease. An increase in the concentration of endothelin-1 and the intensity of desquamation of the endothelium indicates a pronounced endothelial dysfunction in patients in the acute stage of ischemic damage. The use of a set of indicators allows to supplement information about the functional state of the brain tissue in the acute period of ischemic stroke and to predict the outcome of the disease.

Keywords: ischemic stroke, prognosis, endothelial dysfunction, inflammation.

Ишемический инсульт относится к значимой медико-социальной проблеме, являющейся одной из основных причин высокой смертности и стойкой утраты трудоспособности населения. Исследования последних лет показали, что маркеры регуляции сосудистого тонуса и его повреждения могут иметь важное прогностическое значение. Согласно современным представлениям эндотелий рассматривается как метаболически активный орган, участвующий в регуляции сосудистого тонуса, ангиогенеза, в разви-

тии воспалительной реакции, иммунного ответа. Острая ишемия головного мозга сопровождается эндотелиальной дисфункцией вследствие развития воспалительного процесса, активации вазоконстрикторных механизмов [2, 9]. Известно, что эндотелины являются самыми мощными сосудосуживающими агентами. Накоплены данные, указывающие на участие активированных рецепторов эндотелина мозга в различных патофизиологических реакциях при его повреждении [1]. В острой фазе церебральной ишемии наблюдается длительный спазм сосудов головного мозга и его отек, что усугубляет нейрональное повреждение [6]. Нарушение целостности мозговой ткани способно запустить локальную и/или системную воспалительную реакцию. В настоящее время воспаление рассматривается в качестве потенциально значимой цели терапии при ишемическом инсульте [7]. Важным патофизиологическим механизмом развития острой ишемии мозга является нарушение функциональной активности и структурной целостности эндотелиальных клеток. Прямым клеточным маркером, позволяющим оценить повреждение эндотелия, являются циркулирующие эндотелиальные клетки в периферической крови [3, 4]. Комплексная оценка ключевых метаболитов, характеризующая значимые патофизиологические механизмы развития ишемического процесса, позволит прогнозировать течение и исход заболевания.

Цель исследования – изучение зависимости между содержанием в сыворотке крови эндотелина-1, *C-реактивного белка* (СРБ), *циркулирующих эндотелиоцитов* (ЦЭК) и тяжестью ишемического инсульта, а также их прогностической значимости.

Материалы и методы исследования. Проведено проспективное продольное исследование, в которое было включено 88 больных ишемическим инсультом, поступивших в 1 сутки от появления первых симптомов заболевания. Средний возраст больных составил $65 \pm 7,8$ лет. В группу обследуемых включены пациенты с ишемическим инсультом, подтвержденным методами нейровизуализации – *компьютерной томографией* (КТ). Критерием исключения стали пациенты, у которых инсульт развился вследствие декомпенсации хронического соматического заболевания, имеющие в анамнезе онкологическую патологию, страдающие эпилепсией, злоупотребляющие психоактивными веществами. Для оценки тяжести неврологического дефицита использовали шкалу инсульта *Национального института здоровья (NIHSS)*. Определение лабораторных показателей проводили в первые сутки. Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

Количество обследованных	88	
Пол	Женщины	59 (67%)
	Мужчины	29 (33%)
Сопутствующая патология	Артериальная гипертония	78 (88,6%)
	Ишемическая болезнь сердца	60 (68,2%)
	ОНМК в анамнезе	15 (17%)
	Сахарный диабет	31 (35,2%)
	Инфаркт миокарда в анамнезе	
Летальный исход		23 (26,1%)

В зависимости от тяжести ишемического инсульта пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили 42 пациента с инсультом легкой и средней степени тяжести с количеством баллов по шкале *NIHSS* до 14 включительно (средний балл 6 [5, 9]), во вторую группу вошли 46 пациентов с тяжелым инсультом (количество баллов по шкале *NIHSS* – свыше 14), что составило 20 [18, 26] баллов.

В группу контроля вошли 15 человек сопоставимого возраста. Критериями отбора в группу сравнения явились, помимо возраста, отсутствие в анамнезе перенесенных ранее острых ишемических эпизодов (ишемического инсульта, инфаркта миокарда).

Определение концентрации эндотелина проводили методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «*Biomedica*» (Австрия) на аппарате *StatFax 3200*. Концентрацию *C-реактивного белка* определяли иммунотурбидиметрическим методом реактивами «*DyaSis*» (Германия) с помощью биохимического полуавтоматического анализатора «*Screen Master*». Циркулирующие эндотелиоциты измеряли методом проточной цитометрии на цитофлюориметре «*FacsCalibur*» с использованием моноклональных флуоресцентно меченых антител к *CD45* и *CD146* [4]. Полученные данные анализировали с помощью программы *CellQest*.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программного обеспечения *Statistica 6.0 (StatSoft, USA)*. Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов непараметрического анализа. Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений *медианы (Me)*, нижнего и верхнего квартилей. Номинальные

данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение двух независимых групп проводилось по критерию Манна-Уитни. При сравнении нескольких выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовался критерий Краскела-Уоллиса, являющийся непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа. Для определения направленности и силы связи результатов исследования использовали критерий Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Результаты полученных исследований представлены в табл. 2.

Таблица 2

Оценка уровня эндотелина, С-реактивного белка и ЦЭК у больных ишемическим инсультом в острой стадии заболевания

Показатель, единицы измерения	1 группа (n=42)	2 группа (n=46)	Группа контроля (n=15)	Уровень статистической значимости
Эндотелин, фмоль/мл	0,7 [0,3; 1,5]	1,5 [0,6; 3,4]	0,6 [0; 1,4]	$p1=0,615$ $p2=0,61$ $p3=0,316$
С-реактивный белок, мг/мл	12,0 [4,0; 27,0]	20,0 [3,0; 77,0]	0,5 [0; 2,0]	$p1 = 0,004$ $p2 = 0,0038$ $p3 = 0,76$
Циркулирующие эндотелиоциты (кол-во ЦЭК×10 ⁵ лейкоцитов)	2,5×10 [1,0; 4,0]	5,0× [2,5; 7,0]	1,0 [1,0; 2;0]	$p1 = 0,12$ $p2=0,008$ $p3=0,001$

Примечание: $p1$ – сравнение значений группы контроля и показателей пациентов 1 группы; $p2$ – сравнение значений группы контроля и показателей пациентов 2 группы; $p3$ – сравнение значений показателей 1 и 2 группы

Для оценки прогностической значимости исследуемые показатели сравнивались в группах в зависимости от исходов заболевания: с летальным исходом/выжившие. Данные представлены на рис.

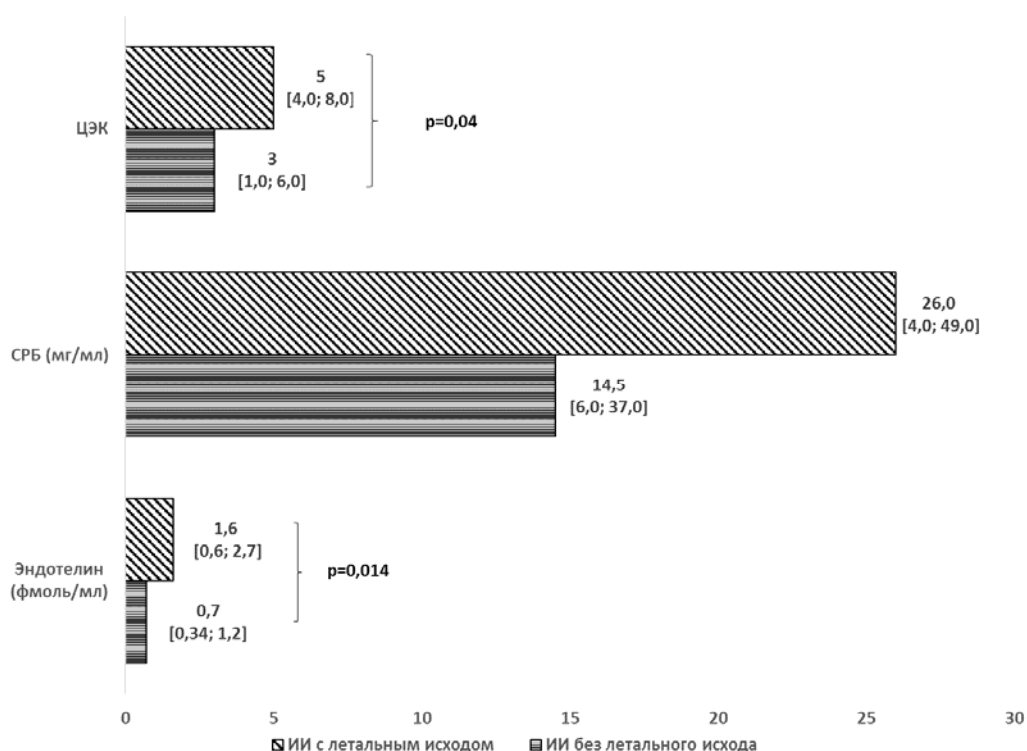


Рис. Уровень эндотелина-1 (фмоль/мл), С-реактивного белка (мг/мл) и ЦЭК (кол-во ЦЭК×10⁵ лейкоцитов) у больных ишемическим инсультом в зависимости от исхода заболевания

Как следует из данных, представленных в табл. 2, концентрация эндотелина-1 в сыворотке крови пациентов не имела статистически значимых отличий у пациентов ишемическим инсультом различной степени тяжести. Концентрации эндотелина-1 у пациентов с острой недостаточностью мозгового кровообращения и группой контроля также статистически значимо не отличались. Согласно литературным данным старение организма сопровождается развитием эндотелиальной дисфункции и сопровождается повышением концентрации эндотелина [10]. Известно, что возраст является одним из немодифицируемых факторов развития острой недостаточности мозгового кровообращения. Однако другими авторами показано, что у лиц молодого возраста (от 25 до 41 года) уровни эндотелина-1 коррелируют с факторами риска развития сердечно-сосудистой патологии [5]. Известно, что основным ферментом, участвующим в образовании активной формы пептида – эндотелина-1, является *эндотелин-превращающий фермент (ECE-1)*. Для этого энзима выявлена ассоциация полиморфизма *C338A*, расположенного в промоторной части гена *ECE-1*, с повышенным риском развития ишемического инсульта [8], что может оказывать влияние на плазменный уровень эндотелина-1. Анализ концентрации эндотелина в зависимости от исхода заболевания показал статистически значимые отличия группами пациентов: у пациентов с летальным исходом уровень эндотелина-1 в сыворотке крови был выше. К настоящему времени накоплены доказательства, что при острой ишемии стимуляция эндотелиновых рецепторов в мозговой ткани оказывает влияние на различные патофизиологические механизмы: усиливает гладкомышечный спазм, опосредованно индуцирует развитие отека мозга [6].

Анализ уровня СРБ у больных ишемическим инсультом различной степени тяжести показал достоверное повышение изучаемого показателя по сравнению с контрольной группой. Повышение концентрации СРБ свидетельствует о выраженной воспалительной реакции у больных ишемическим инсультом различной степени тяжести.

Однако не выявлено статистически значимых отличий в группах пациентов, распределенных по степени тяжести. Возможным объяснением может служить тот факт, что активация воспалительных процессов происходит через несколько часов от начала тканевого повреждения. При изучении зависимости показателей СРБ от исхода ишемического инсульта не выявлено статистически значимого повышения концентрации белка в группе пациентов с летальным исходом.

С развитием воспалительной реакции тесно взаимосвязана эндотелиальная дисфункция – один из важнейших патофизиологических механизмов развития сердечно-сосудистых заболеваний. Эндотелий интимы сосудов выполняет барьерную, секреторную, гемостатическую, вазотоническую функции, играет важную роль в процессах воспаления и ремоделирования сосудистой стенки. Активация и/или повреждение эндотелия имеет фундаментальное значение в развитии острой ишемии головного мозга. Эндотелиальные клетки входят в состав нейроваскулярной единицы, составляющей основу *гематоэнцефалического барьера* (ГЭБ). Острая стадия ишемии головного мозга сопровождается повышением проницаемости ГЭБ. В нашем исследовании выявлено повышение уровня ЦЭК у больных с тяжелым течением ишемического инсульта. Увеличение концентрации эндотелиальных клеток выявлено у больных ишемическим инсультом с летальным исходом. Проведение корреляционного анализа показало умеренную положительную взаимосвязь уровней эндотелина и ЦЭК ($R=0,36$, $p=0,021$). Как следует из полученных результатов, у пациентов с ишемическим инсультом различной степени тяжести выявляется выраженная дисфункция эндотелия, характеризующаяся повышенной десквамацией эндотелиальных клеток.

Заключение. Таким образом, анализ уровней эндотелина, СРБ и циркулирующих эндотелиоцитов свидетельствует о развитии выраженной эндотелиальной дисфункции у больных ишемическим инсультом в острой стадии заболевания. Использование комплекса показателей (эндотелин и ЦЭК) позволяет дополнить информацию о функциональном состоянии ткани мозга в острейшем периоде ИИ и прогнозирует исход заболевания.

Литература

1. Алиева А.М., Чиркова Н.Н., Пинчук Т.В., Андреева О.Н., Пивоваров В.Ю. Эндотелины и сердечно-сосудистая патология // Российский кардиологический журнал. 2014. № 11 (115). С. 83–87.
2. Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017. Т. 16, № 1 (61). С. 4–15.
3. Топузова М.П., Алексеева Т.М., Вавилова Т.В., Сироткина О.В., Клочева Е.Г. Циркулирующие эндотелиоциты и их предшественники как маркер дисфункции эндотелия у больных артериальной гипертензией, перенесших ишемический инсульт (обзор) // Артериальная гипертензия. 2018. № 24 (1). С. 57–64.
4. Феоктистова В.С., Вавилова Т.В., Сироткина О.В., Болдуева С.А., Гайковая Л.Б., Ласковец А.Б., Ермаков А.И. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. Т. 60, № 4. С. 23–39.

5. Bossard M., Pumpol K., van der Lely S., Aeschbacher S., Schoen T., Krisai T., Lam T., Todd J., Estis J., Risch M., Risch L., Conen D. Plasma endothelin-1 and cardiovascular risk among young and healthy adults // *Atherosclerosis*. 2015. V. 239 (1). P. 186–191.
6. Koyama Y. Endothelin systems in the brain: involvement in pathophysiological responses of damaged nerve tissues // *Biomol. Concepts*. 2013. № 4. P. 335–347.
7. Lamberts K.L., Finsen B., Clausen B.H. Post-stroke inflammation-target or tool for therapy? // *Acta Neuropathol*. 2018. [Epub ahead of print].
8. Li R., Cui M., Zhao J., Yu M., Ying Z., Zhou S., Zhou H. Association of endothelin-converting-1b C-338A polymorphism with increased risk of ischemic stroke in Chinese Han population // *J. Mol. Neurosci*. 2013. № 51 (2). P. 485–492.
9. Madden J.A. Role of the vascular endothelium and plaque in acute ischemic stroke // *Neurology*. 2012. № 79. P. 58–62.
10. Van Guilder G.P., Westby C.M., Greiner J.J. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic, exercise // *Hypertension*. 2007. № 50. P. 292–293.

References

1. Alieva AM, Chirkova NN, Pinchuk TV, Andreeva ON, Pivovarov VYU. Endoteliny i serdechno-sosudistaya patologiya [Endothelin and cardiovascular pathology]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*. 2014;11(115):83-7. Russian.
2. Vasina LV, Petrishhev NN, Vlasov TD. EHndotelial'naya disfunktsiya i ee osnovnye marker [Endothelial dysfunction and its main markers]. *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2017;16(61):4-15. Russian.
3. Topuzova MP, Alekseeva TM, Vavilova TV, Sirotkina OV, Klocheva EG. TSirkuliruyushhie ehndoteliiotsity i ikh predshestvenniki kak marker disfunktsii ehndoteliiya u bol'nykh arterial'noj gipertenziej, perenesshikh ishemicheskij insult (obzor) [Circulatory endotheliocytes and their precursors as a marker of endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension after ischemic stroke (review)]. *Arterial'naya gipertenziya*. 2018;24 (1):57-64. Russian.
4. Feoktistova VS, Vavilova TV, Sirotkina OV, Boldueva SA, Gajkovaya LB, Laskovets AB, Ermakov AI. Novyj podkhod k otsenke disfunktsii ehndoteliiya: opredelenie kolichestva tsirkuliruyushhikh ehndotelial'nykh kletok metodom protochnoj tsitometrii [A new approach to the assessment of endothelial dysfunction: determining the number of circulating endothelial cells using flow cytometry]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015;60(4):23-39. Russian.
5. Bossard M, Pumpol K, van der Lely S, Aeschbacher S, Schoen T, Krisai T, Lam T, Todd J, Estis , Risch M, Risch L, Conen D. Plasma endothelin-1 and cardiovascular risk among young and healthy adults. *Atherosclerosis*. 2015;239 (1):186-91.
6. Koyama Y. Endothelin systems in the brain: involvement in pathophysiological responses of damaged nerve tissues. *Biomol. Concepts*. 2013;4:335-47.
7. Lamberts KL, Finsen B, Clausen BH. Post-stroke inflammation-target or tool for therapy? *Acta Neuropathol*. 2018. [Epub ahead of print].
8. Li R, Cui M, Zhao J, Yu M, Ying Z, Zhou S, Zhou H. Association of endothelin-converting-1b C-338A polymorphism with increased risk of ischemic stroke in Chinese Han population. *J. Mol. Neurosci*. 2013;51 (2):485-92.
9. Madden JA. Role of the vascular endothelium and plaque in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2012;79:58-62.
10. Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ. Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic, exercise. *Hypertension*. 2007;50:292-3.

Библиографическая ссылка:

Левашова О.А., Золкорняев И.Г. Оценка уровня эндотелина-1, с-реактивного белка и интенсивности десквамации эндотелия у больных ишемическим инсультом в остром периоде // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2019. №4. Публикация 1-8. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-4/1-8.pdf> (дата обращения: 18.07.2019). DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16394. *

Bibliographic reference:

Levashova OA, Zolkornyaev IG. Ocenka urovnja jendotelina-1, s-reaktivnogo belka i intensivnosti deskvamacii jendotelija u bol'nyh ishemicheskim insult'om v ostrom periode [Assessment of the level of endothelin-1, c-reactive protein and intensity endothelium desquamation in patients with ischemic stroke in the sharp period]. *Journal of New Medical Technologies, e-edition*. 2019 [cited 2019 July 18];1 [about 5 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-4/1-8.pdf>. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16394.

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2019-4/e2019-4.pdf>