

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

На правах рукописи

Сергеева Светлана Павловна

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ
АПОПТОЗА НЕЙРОНОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО
ИНСУЛЬТА**

3.3.3. Патологическая физиология

3.1.24. Неврология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

Литвицкий П. Ф. член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор

Савин А.А. доктор медицинских наук, профессор

Москва – 2022

Оглавление

Оглавление	2
Введение	6
Актуальность исследования.....	6
Степень разработанности темы исследования.....	6
Цель исследования	7
Задачи исследования.....	8
Научная новизна.....	9
Теоретическая значимость	10
Методология и методы исследования.....	12
Основные положения, выносимые на защиту.....	13
Степень достоверности результатов исследования.....	14
Апробация результатов исследования	15
Личный вклад автора в проведенное исследование	16
Связь с планом научного направления	18
Внедрение результатов исследования в практику	19
Соответствие паспорту специальности.....	20
Публикации по теме диссертации	20
Структура и объем диссертации.....	20
Глава 1 Апоптоз нейронов и нейрогуморальные механизмы регуляции при ишемическом инсульте	21
1.1 Апоптоз нейронов при ишемическом инсульте	21
1.2 Закономерности нейрогуморальной регуляции при ишемическом инсульте.....	40
1.3 Влияние нейрогуморальных механизмов регуляции на апоптоз нейронов.....	51
Глава 2 Материалы и методы исследования.....	59
2.1 Характеристика групп пациентов	59
2.1.1 Характеристика больных, включенных в клиническое исследование, и группы контроля	59
2.1.2 Характеристика пациентов, включенных в патоморфологическое исследование, и группы контроля.	66

2.2	Материал исследования	67
2.3	Методы исследования	68
2.3.1	Клинические методы.....	68
2.3.2	Лабораторные методы.....	71
2.3.3	Методы патоморфологического исследования	72
2.4	Методы статистической обработки.	78
Глава 3 Закономерности динамики концентрации растворимых регулирующих апоптоз молекул систем Fas и TNFα и мембранных рецепторов Fas (CD95) на CD3-позитивных лимфоцитах периферической крови пациентов в остром периоде ишемического инсульта.....		
3.1	Динамика состояния регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы Fas	81
3.2	Динамика показателей регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы TNF α	100
Глава 4 Влияние регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNFα на течение и исход острого периода ишемического инсульта.....		
Глава 5 Закономерности динамики содержания гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 в периферической крови, а также выраженности стресса, тревоги, депрессии у пациентов в остром периоде ишемического инсульта.....		
5.1	Динамика содержания в крови гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 у пациентов после ишемического инсульта	124
5.2	Динамика клинических показателей, отражающих уровень стресса, тревоги и депрессии у пациентов после ишемического инсульта.....	136
5.3	Динамика некоторых клинических показателей, характеризующих состояние иммунной системы у пациентов после ишемического инсульта.....	144
Глава 6 Взаимосвязь уровней гормонов стресс-реализующей системы и клинических проявлений у пациентов в остром периоде ишемического инсульта... ..		
6.1	Корреляции уровней гормонов стресс-реализующей системы и показателей тревоги, стресса, депрессии и системного воспалительного	

ответа у пациентов в остром периоде ишемического инсульта.....	156
6.2 Закономерности изменения концентрации гормонов стресс-реализующей системы и особенности клинического течения острого периода ишемического инсульта.....	166
6.3 Корреляции показателей выраженности состояний стресса, тревоги, депрессии и клинического течения острого периода ишемического инсульта.....	172
6.4 Корреляции концентрации гормонов стресс-реализующей и регулирующих процессы апоптоза и воспаления систем.....	181
6.5 Корреляции показателей выраженности состояний стресса, тревоги, депрессии и клинического течения острого периода ишемического инсульта с показателями системного воспалительного ответа и регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α в периферической крови.....	192
Глава 7 Закономерности апоптоза нейронов в головном мозге при ишемическом инсульте. Патоморфологические данные.....	200
7.1 Закономерности морфологических изменений в коре головного мозга после ишемического инсульта.....	200
7.2 Распространенность и локализация апоптоза нейронов в коре головного мозга после ишемического инсульта.....	212
7.3 Закономерности экспрессии рецепторов, лигандов системы Fas и Fas-апоптоз ингибиторной молекулы-2 (FAIM2) нейронами коры головного мозга после ишемического инсульта	217
7.4 Закономерности экспрессии в нейронах коры головного мозга белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1 после ишемического инсульта.	226
Глава 8 Обсуждение	232
8.1 Закономерности изменения лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в периферической крови в остром периоде ишемического инсульта.....	232
8.2 Роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в патогенезе и формировании клинических проявлений ишемического инсульта.....	248
8.3 Влияние стресс-реализующей системы на эффект регулирующих	

апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α и клиническое течение острого периода ишемического инсульта	267
8.4 Закономерности гистологических изменений в коре головного мозга при ИИ. Роль апоптоза нейронов в патогенезе его острого периода.	287
Заключение	336
Выводы	344
Практические рекомендации.....	346
Список сокращений и условных обозначений	348
Список литературы	349

Введение

Актуальность исследования

Ишемический инсульт (ИИ) – медико-социально и экономически значимое заболевание [29, 38, 377]. Системой здравоохранения достигнуты большие успехи в его лечении, усовершенствованы методы реабилитации [79]. Но все же многие вопросы еще не решены [70]. Высокая смертность, долгосрочная инвалидность пациентов после ИИ и связанные с ней значимые экономические потери [117, 121] делают разработку новых патогенетически обоснованных алгоритмов лечения ИИ крупной научной и практически значимой проблемой. Для ее решения требуются новые научные знания о механизмах регуляции процессов повреждения и восстановления нервной ткани при ИИ.

Апоптоз – это сложный процесс регулируемого разрушения клетки. Он считается одним из основных механизмов гибели нейронов при развитии ИИ [581]. В экспериментальных и клинических исследованиях «антиапоптозный» эффект терапевтических воздействий традиционно трактуется как положительный [195, 302, 561, 637]. Однако, это не вполне соответствует общебиологической роли апоптоза, как основного регулятора клеточного состава тканей организма [126, 127, 217, 542]. Такое противоречие представляет актуальную проблему фундаментальной и клинической медицины, отсутствие решения которой тормозит научный прогресс и ограничивает практические лечебно-профилактические мероприятия.

Степень разработанности темы исследования

Индукция апоптоза нейронов может осуществляться в ответ на внутриклеточные изменения и внешние стимулы. Так, глутаматная эксайтотоксичность – один из ведущих механизмов патогенеза ИИ – может

приводить к индукции апоптоза в нейронах головного мозга [237]. Значимым внешним стимулом может быть взаимодействие лигандов и рецепторов смерти суперсемейства фактора некроза опухоли. Их мембранные формы выявлены на поверхности нейронов [136], а содержание растворимых - изменяется в периферической крови после повреждений нервной ткани [168, 397, 399, 490]. Активация рецепторов смерти может приводить к широкому спектру биологических процессов, обеспечивающих пластичность нервной ткани. Среди них пролиферация и дифференцировка нейронов, а также устранение их части (или прунинг) [288, 344, 535, 537].

Закономерности реализации механизмов регуляции ответа стресс-реализующей системы организма определяют полноту и спектр адаптивных реакций человека на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до социального [212, 550]. ИИ представляет собой вариант стрессорного воздействия [30, 111, 315, 362]. Данные о закономерностях динамики концентраций гормонов стресс-реализующей системы в периферической крови пациентов ИИ противоречивы [435]. Повышение уровня связанных с реализацией ответа на стрессорное воздействие биологически активных веществ (БАВ) - кортизола и интерлейкина-6 (ИЛ-6) – характерно также и для пациентов, страдающих депрессией [167, 421, 431, 447, 485]. Это состояние развивается почти у каждого 3-го больного, перенесшего ИИ, и негативно влияет на процессы восстановления [25, 76]. В экспериментальных работах выявлено увеличение числа реализующих апоптоз нейронов в головном мозге и при депрессии, и при ИИ [190, 587, 625, 637].

Цель исследования

Выявить роль и закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов коры головного мозга в остром периоде ишемического инсульта для расширения представлений о его этиологии и патогенезе, повышения эффективности диагностики, лечения и профилактики.

Задачи исследования

1. Выявить закономерности динамики содержания регулирующих апоптоз лигандов (sFasL, TNF α) и рецепторов (sFas, sTNF-R1, Fas) в периферической крови пациентов в остром периоде ишемического инсульта.
2. Выявить роль соотношений регулирующих апоптоз лигандов и рецепторов в периферической крови в патогенезе острого периода ИИ, их влияние на его клиническое течение и исходы.
3. Выявить закономерности динамики содержания в периферической крови эффекторов стресс-реализующей системы (адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола, адреналина, норадреналина, интерлейкина-6) и особенности изменения психоэмоционального состояния пациентов в остром периоде ИИ.
4. Определить влияние изменений концентрации гормонов стресс-реализующей системы в периферической крови на динамику клинического течения острого периода ИИ, а также прогностическое значение этих изменений.
5. Охарактеризовать с учетом результатов сопоставления патоморфологических, лабораторных и клинических данных закономерности процесса реализации апоптоза нейронов коры головного мозга пациентов, умерших в остром периоде ИИ.
6. Определить значение апоптоза нейронов головного мозга в патогенезе острого периода ИИ.
7. Сформулировать концепцию регуляции и роли процесса апоптоза нейронов в головном мозге в остром периоде ИИ.
8. Сформулировать представление о системе управления механизмами регуляции апоптоза нейронов головного мозга в остром периоде ИИ.

Научная новизна

В настоящей работе получены новые факты и с их учетом сформулированы и аргументированы новые положения о механизмах регуляции процессов повреждения и восстановления головного мозга при ИИ.

На достаточной и однородной выборке данных о пациентах с острым ИИ определены ранее неизвестные закономерности динамики у них концентрации в периферической крови регулирующих апоптоз молекул системы Fas (sFas, sFasL, Fas (CD95) на CD3⁺ лимфоцитах) и TNF α (TNF α , sTNF-R1). Показано, что у пациентов с острым ИИ наблюдается закономерное увеличение в периферической крови преимущественно концентраций растворимых лигандов (sFasL, TNF α) по сравнению с таковыми в контрольной группе. Выявлено существенное влияние величины и динамики соотношения концентраций факторов гуморальной регуляции апоптоза (sFasL и sFas; TNF α и sTNF-R1) на особенности клинического течения и прогноз исхода острого периода ИИ. Определено, что роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в патогенезе ИИ зависит от времени, прошедшего с момента его начала, а также от функционального исхода острого периода ИИ. Доказана ранее неизвестная взаимосвязь динамики концентрации гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и вышеуказанных молекул гуморальной регуляции апоптоза, их влияние на динамику неврологического дефекта и психоэмоционального состояния пациентов после ИИ.

У пациентов, умерших в остром периоде ИИ, в их коре головного мозга впервые выявлено закономерное пропорциональное приближенности к ишемическому очагу увеличение доли нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы (каспаза 3, каспаза 8, p53, Fas, Notch1) по

сравнению с контролем, а также уменьшение доли нейронов, экспрессирующих молекулы, связанных с их выживанием и адаптацией (FAIM2, c-fos, ERK $\frac{1}{2}$, MAP2). Доказано, что у пациентов после ИИ повышение уровня кортизола в крови сочетается с увеличением доли нейронов в коре головного мозга, реализующих апоптоз. Установлено наличие корреляции между уровнем в периферической крови растворимых молекул системы Fas и долей нейронов, имеющих на своей поверхности их трансмембранную форму. Также выявлены ранее неизвестные связи этих показателей с экспрессией в нейронах каспаз и маркеров нейрональной активации FAIM2, c-fos, ERK $\frac{1}{2}$, MAP2.

Теоретическая значимость

Результаты настоящей работы расширяют представления о значении в остром периоде ИИ апоптоза нейронов; они являются основой описания закономерностей изменения механизмов его регуляции. Обоснован новый стратегически важный для клинической тактики, а также трактовки результатов экспериментов подход к представлению об апоптозе как о неспецифическом механизме адаптации к последствиям ишемического повреждения головного мозга. Программируемая гибель нейронов является не только механизмом патогенеза и приводит к усугублению тяжести состояния пациента, но и саногенетическим компонентом механизма реализации нейропластичности. Этот факт необходимо учитывать при разработке новых способов лечения ИИ, направленных на модуляцию процесса апоптоза.

На основе результатов работы сформулирована концепция о закономерностях изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ. Эта концепция учитывает данные о плейотропности оказываемых на нейрон эффектов регулирующих апоптоз факторов. И предполагает, что на выбор итогового реализуемого в нейроне процесса

влияет совокупность факторов его микроокружения. При этом изменение каждого фактора в отдельности (например, взаимодействие рецепторов смерти Fas на нейроне с лигандами) является лишь прецедентом, в результате которого в нейроне начинается конкуренция активированных сигнальных путей и определяемых ими процессов для реализации гибели клетки или адаптивного изменения ее фенотипа, что отражается появлением у системы нового признака/функции с течением времени. На различных уровнях организации живой материи [124] должны учитываться соответствующие ему (выбранному уровню) параметры и способы их оценки. Например, на уровне нейрона в условиях церебральной ишемии – это совокупность градиентов всех физических и химических параметров микроокружения нейрона (парциальное напряжение кислорода, pH, концентрация глюкозы, концентрация нейромедиаторов и ростовых факторов и прочих БАВ и прочие). На уровне пациента – это совокупность лечебных, реабилитационных, профилактических воздействий и условия стационара (питание, температура в помещении, особенности ухода и прочее).

Практическая значимость

С учетом представленной выше теоретической базы сформулирован алгоритм управления механизмами регуляции апоптоза нейронов головного мозга в остром периоде ИИ в эксперименте и клинике посредством целенаправленной последовательной модификации запроса системы на адаптацию.

В работе показано, что соотношение концентраций растворимых регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов при поступлении пациента с ИИ в стационар следует использовать для прогноза исхода его острого периода (Патент №2517471).

Обоснована нецелесообразность использования показателей концентрации кортизола, АКТГ, адреналина, норадреналина, интерлейкина-6

(ИЛ-6) в периферической крови пациентов после ИИ в медицинской практике для вывода о прогнозе состояния пациента с учетом того факта, что концентрации этих веществ при ИИ, достоверно возрастают по сравнению с контрольными значениями, не выходят за рамки общепопуляционной нормы. В отличие от этого целесообразно использование с прогностической целью диагностических шкал. Так, показано что уровень депрессии на 7-е сутки после манифестации ИИ в 12 баллов и выше по HADS является предиктором его неблагоприятного исхода. Выраженность неврологического дефекта при поступлении пациента с ИИ в стационар больше 10 по шкале NIHSS является надежным предиктором развития депрессии в течение последующего острого периода ИИ.

В ходе настоящего исследования разработаны и введены новые информативные интегративные показатели для оценки как текущего состояния пациентов, так и его прогноза: показатель темпа восстановления (отношение разности баллов по любой шкале для оценки неврологического дефекта (например, NIHSS) после острого нарушения мозгового кровообращения ко времени в неделях/сутках за данный временной промежуток; соотношение концентраций sFasL/sFas в периферической крови и показатель sFasL-эффективности (отношение концентрации sFasL к произведению концентрации sFas и абсолютному содержанию CD3CD95+ лимфоцитов).

Методология и методы исследования

Объектом исследования были пациенты в остром периоде ИИ (n=155) и здоровые добровольцы, составившие группу контроля (n=28). Предметом исследования - закономерности изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта.

Теоретической основой послужили данные экспериментальных и клинических исследований о закономерностях инициации и реализации

апоптоза при различных заболеваниях нервной системы [71, 249, 487], национальные и международные клинические рекомендации по ведению пациентов в острейшем, остром и последующих периодах ИИ.

Для решения поставленных задач использовались клинический, лабораторно-инструментальные и статистический методы. Было проведено клиническое неврологическое обследование пациентов и определение их психоэмоционального статуса с использованием специальных шкал для объективизации полученных данных и возможности статистической обработки; методы выявления и анализа содержания в периферической крови БАВ и клеточных элементов; методики предварительной обработки и изучения образцов ткани коры головного мозга. Статистическая обработка проведена с помощью Statistica 6.0 (StatSoft, США).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Для острого периода ИИ характерно закономерное увеличение содержания в периферической крови растворимых регулирующих апоптоз факторов sFasL, sFas и TNF α по сравнению с показателями в контрольной группе.
2. Соотношения концентраций растворимых рецепторов и лигандов регулирующих апоптоз (sFasL/sFas и TNF α /sTNF-R1) у пациентов с острым ИИ являются прогностически значимыми показателями. Наиболее информативной является величина соотношения концентраций в крови sFasL/sFas.
3. Развитие преобладающего эффекта регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений в крови в патогенезе ИИ зависит от времени, прошедшего с момента его манифестации, и определяет функциональный исход к концу острого периода.
4. Закономерности регуляции стресс-реализующей системы у пациентов в остром периоде ИИ существенно влияют на его функциональный исход и

психоэмоциональное состояние. Вероятность развития депрессии в исходе острого периода ИИ определяется тяжестью неврологического дефекта в его острейшем периоде.

5. Ключевыми показателями состояния стресс-реализующей системы в патогенезе острого периода ИИ являются концентрации в крови кортизола и АКТГ.
6. В остром периоде ИИ в коре головного мозга характерно пропорциональное приближенности к ишемическому очагу увеличение доли нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы.
7. Развитие острого ИИ сопровождается одновременной активацией механизмов альтерации и адаптации нейронов коры головного мозга. На выбор преимущественно реализуемого процесса влияет совокупность факторов микроокружения нейрона.
8. Апоптоз нейронов – значимый механизм адаптации к последствиям ИИ. Роль (значение) апоптоза нейронов в коре головного мозга при ИИ зависит от уровня рассмотрения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социум), а также от критериев оценки адаптивности ответа, задаваемых исследователем или врачом.
9. Основной принцип управления механизмами регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ заключается в последовательной целенаправленной модификации совокупности показателей их микроокружения посредством целенаправленного воздействия на разных уровнях рассмотрения системы.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов представленного в настоящей работе исследования подтверждается точностью регистрации первичной документации, в которой полностью отражен объем клинических,

лабораторных, инструментальных, гистологических, морфометрических исследований. Высокая достоверность результатов обеспечена реализацией при выполнении исследования современных стандартизированных общепринятых методов и применении валидных шкал. В работе использовано сертифицированное оборудование и реактивы, строго соблюдались инструкции работы с ними. Дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам. Расчет размера выборки проводился на этапе планирования исследования, уровень значимости для отклонения нулевой гипотезы был задан 0,05, мощность 80%. Объемы выборок для каждой части исследования описаны в разделе, посвященном материалам и методам исследования. Статистическая обработка данных выполнена на современном уровне с использованием адекватных статистических методов и программного обеспечения. Полученные данные не противоречат и сопоставимы с результатами других отечественных и зарубежных исследовательских групп.

Апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационного исследования были обсуждены на научных мероприятиях: Международной научной конференции "Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии" Москва, 16-17 апреля 2014 года, научно-практической конференции «Современная диагностика и лечение в практической неврологии» Москва, 8-9 октября 2015 года, III Национальном конгрессе «Неотложные состояния в неврологии» 3 - 4 декабря 2015 года, всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 120-летней годовщине со дня рождения профессора Б.М. Соколова, Рязань, 3 – 4 июня 2016 г., Международном конгрессе, посвященном Всемирному дню инсульта., Москва, 2017., научно-практической конференции, посвященной 60-летию организации кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ. –

Гродно, 22 июня 2018 г, конференции с международным участием “Достижения нейронаук и новые направления в диагностике и лечении болезней мозга»: Москва, 2018 год., The 10th international symposium on clinical and applied anatomy (ISCAA), Moscow, 2018, XI Всероссийском съезде неврологов и IV конгрессе Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. СПб, 15-19 июня 2019, V Научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной неврологии», Москва, 10 октября 2019 года, XX Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» 13-14 ноября 2020 года, Москва.

По итогам рассмотрения на совместном заседании кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем НТПБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и кафедры нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России диссертация рекомендована к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология и 3.1.24. Неврология, протокол №12 от 06.04.2022.

Личный вклад автора в проведенное исследование

В выполненной работе вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном выполнении ей лично всех этапов работы. Сергеевой С.П. был самостоятельно проведен анализ литературы и сформулирована рабочая гипотеза, разработан дизайн исследования, в соответствии с которым проведено обследование 948 пациентов с ИИ и 28 человек группы контроля, заполнение протоколов и выполнение всех запланированных методик. Изготовление гистологических препаратов, их фотосъемка, морфометрия, обработка полученных результатов выполнялись автором. Сергеевой С.П. было самостоятельно осуществлено формирование

компьютерных баз данных в форматах Excel и в статистической программе Statistica 6.0, проведен статистический анализ полученных результатов. Также лично автором выполнен патофизиологический и клинический анализ полученных результатов, сформулированы выводы, авторская концепция, практические рекомендации, написан текст диссертации, автореферата, публикаций, патента, произведено графическое оформление работы (таблицы, рисунки, схемы, графики). Вклад ученых, оказавших содействие выполнению работы, отражен в публикациях по теме диссертации.

Автор выражает сердечную благодарность за содействие выполнению работы и всестороннюю поддержку научным консультантам заведующему кафедрой патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем НТПБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), члену-корреспонденту РАН, профессору Литвицкому Петру Францевичу и профессору кафедры нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России Савину Алексею Алексеевичу, а также профессору кафедры физиологии медико-биологического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, ведущему научному сотруднику кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Горбачевой Любови Руфэлевне, кандидату медицинских наук Люндупу Алексею Валерьевичу во время выполнения этой работы заведовавшему отделом передовых клеточных технологий Института регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), профессору, доктору медицинских наук Архипову Владимиру Владимировичу на момент выполнения работы заведовавшему отделением сосудистой неврологии ГБУЗ ГКБ 36 им. Ф.И. Иноземцева, профессору, доктору биологических наук Ерофеевой Людмиле Михайловне и кандидату медицинских наук Шишкиной Людмиле Валентиновне. Автор скорбит и помнит старшего научного сотрудника Лаборатории патогенеза и методов

лечения инфекционных заболеваний ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России Гультяева Максима Михайловича, профессора, заведующего Отделом патологии вегетативной нервной системы НИЦ Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Шваркова Сергея Борисовича.

Связь с планом научного направления

Тема диссертационного исследования утверждена в редакции: «Закономерности изменений нейрогенного, гуморального, иммуногенного регуляторных механизмов и апоптоза нейронов при ишемическом инсульте» на заседании Ученого совета лечебного факультета Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, протокол № 6 от 27 июня 2011 г.

Название темы диссертации в окончательной редакции утверждено на заседании Межфакультетского ученого совета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) протокол №9 от 30 октября 2019 г.

Диссертационная работа выполнялась в рамках комплексной темы НИР кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем НТПБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет): «Механизмы развития, принципы и методы патогенетической терапии и профилактики социально-значимых болезней человека». Тема диссертационного исследования также соответствует плану НИР кафедры нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

Работа проводилась в соответствии с этическими нормами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с учетом поправок от 2013 г. и «Правилами клинической практики Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ №266 от 19.06.2003 г. Диссертационное исследование было одобрено Межвузовским комитетом по этике (Протокол № 08-19 от 26.09.2019 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные Сергеевой С.П. в диссертационном исследовании результаты внедрены в учебный процесс на кафедре патофизиологии, а также на кафедре патологии человека Института биодизайна и моделирования сложных систем НТПБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и на кафедре нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России при обучении студентов и курсантов на факультете последиplomного образования.

Положения, сформулированные по результатам диссертационного исследования, внедрены в научный экспериментально-исследовательский процесс в отделе передовых клеточных технологий ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебно-профилактический и реабилитационный процесс неврологического отделения Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства России как новый алгоритм динамического наблюдения за процессом восстановления неврологического дефекта у больных после ишемического инсульта, неврологического отделения особого структурного подразделения Российского геронтологического научно-клинического центра Федерального

государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также неврологического отделения Больницы Центросоюза Российской Федерации.

Соответствие паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют требованиям паспортов научных специальностей 3.3.3. Патологическая физиология и 3.1.24. Неврология (медицинские науки).

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации автором опубликовано 32 печатных работы, из них 18 научных работ в изданиях из актуального «Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» и приравненных к ним изданиях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 422 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, пяти глав с результатами собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 130 источников на русском и 529 — на английском языках. Работа содержит 2 клинических примера, иллюстрирована 95 рисунками и 35 таблицами.

Глава 1 Апоптоз нейронов и нейрогуморальные механизмы регуляции при ишемическом инсульте

1.1 Апоптоз нейронов при ишемическом инсульте

Апоптоз – это сложный процесс регулируемого разрушения клетки, одна из наиболее известных форм регулируемой клеточной гибели. Он свойственен всем клеткам многоклеточных организмов и является жизненно важным и динамичным процессом [265, 542].

Апоптоз задействован как в физиологических, так и в патофизиологических процессах. Он приводит к избирательной гибели клеток в ответ на специфический стимул. Апоптотическая гибель клеток вызывается регулируемым биохимическим каскадом [276, 417].

В патогенезе заболеваний нервной системы апоптозу отводится одна из основных негативных ролей. Это связано с тем, что способность мозга к нейрогенезу и регенерации длительное время считалась сильно ограниченной [413, 500], а апоптоз рассматривали исключительно как одну из основных причин гибели клеток ткани головного мозга при большинстве болезней нервной системы [158, 653].

Ишемический инсульт (ИИ) – сложный и патогенетически многокомпонентный процесс [497, 548]. При развитии ИИ и на его отдаленных этапах показано нарастание масштаба апоптоза нейронов и глиальных элементов в головном мозге [487, 646]. Один из основных патогенетических механизмов повреждения нейронов при развитии ИИ – глутаматная эксайтотоксичность – приводит к гибели нейронов путем реализации апоптоза [237]. Пути апоптотической гибели нейронов рассматривают как потенциальные мишени для лечения инсульта [393, 581]. Продemonстрировано повышение уровня апоптозиндуцирующих молекул в периферической крови и ликворе у пациентов с ИИ прямопропорциональное тяжести неврологического дефекта [290]. Эти данные служат основанием для положения о существенной значимости апоптозиндуцирующих факторов в патогенезе ИИ. Однако, в связи с недостаточным объемом выборки в одних

исследованиях, отсутствием наблюдений параметра в динамике в других, отсутствия выделения групп по принципу динамики восстановления и исхода острого периода ИИ [171, 407] сделать аргументированный вывод о роли этих факторов в настоящее время не представляется возможным.

Апоптоз - энергозависимый процесс [529]. В конце прошлого века было установлено, что уровень АТФ внутри клетки оказывает решающее влияние на вариант инициируемой клеточной гибели между некрозом и апоптозом равно и *in vitro* и *in vivo*. Тогда же впервые было выдвинуто предположение о существовании континуума от апоптотической до некротической гибели нейронов в центральной нервной системе. Оно основывалось на серии микрофотографий, демонстрировавших дегенерацию нейронов в различные моменты времени после интрацеребральных инъекций возбуждающей аминокислоты у животных [266, 482, 483].

Решающее значение энергообеспечения в варианте реализуемого нейронами головного мозга вида клеточной гибели было показано и на моделях церебральной ишемии [454, 482]. Видимо, это связано с тем, что на ранних этапах локального ишемического повреждения возможно оценить уровень кислородного и субстратного обеспечения нервной ткани, как обратно пропорциональное дефициту кровотока [372].

В острейшем периоде ИИ в зоне с уровнем гипоксии и субстратного дефицита ниже критического формируется очаг некроза [636]. По мере удаления от некротического очага можно выделить несколько зон в зависимости от активности метаболизма и функциональной сохранности [282]. Снижение уровня церебрального кровотока до порога примерно в 20-24% от исходного приводит к прогрессирующему падению уровня АТФ. Ниже этого порога полноценная реализация механизмов апоптоза невозможна: здесь имеют место другие менее энергозатратные формы клеточной гибели. Ниже порога 35-40% кровотока происходит утрата специфической функции нервной ткани, о которой свидетельствует отсутствие электрической активности нейронов. Уровень энергообеспечения

здесь достаточен для поддержания жизнеспособности и реализации программируемой клеточной гибели. В этих зонах по мере увеличения объема церебрального кровотока происходит изменение преобладающей формы альтерации, образуя описанный рядом авторов апоптоз-некрозный континуум [372]. Для уровня кровотока выше 35-40% характерны лишь селективные потери нейронов в основном в результате апоптоза [263].

Установлено, что апоптоз после начала развития ИИ имеет наибольшую представленность в зоне ишемической полутени (пенумбры). Под «пенумброй» понимают участок мозга со сниженным кровотоком, клетки которого потенциально жизнеспособны, но функционально не активны [225]. Однако, в отдаленных от ишемического очага областях головного мозга, где не было значимого уменьшения кислородного и субстратного обеспечения, в отдельных экспериментальных исследованиях на животных показано увеличение числа клеток с признаками апоптоза [395, 520]. Причина этого явления до сих пор убедительно не объяснена ни одной научно-исследовательской группой, а в ряде работ контралатеральное ИИ полушарие используется как контроль [164, 433].

В нейронах головного мозга при ишемическом инсульте могут реализовываться механизмы апоптоза каспазнезависимого, а также каспаззависимых внутреннего и внешнего путей [116, 400].

Каспазы (от англ. cysteine-dependent aspartate specific protease, сокращенно caspase) - семейство цистеиновых протеаз, расщепляющих белковые последовательности аминокислот после аспартата. Общий механизм каспазо-опосредованной клеточной гибели высоко консервативен среди всех типов клеток, не исключая нейроны коры, гиппокампа и мозжечка [400]. Все каспазы синтезируются в клетках в виде неактивных зимогенов. В настоящее время идентифицировано 14 каспаз. Выделяют инициаторные каспазы, например -8, -9, -10 и -2, и эффекторные: каспаза-3, -6 и -7 - основные из них. Инициаторные каспазы активируются специальными белковыми комплексами, а эффекторные инициаторными каспазами, образуя

целый каскад биохимических реакций, результатом которого является разрушение структурных белков, сигнальных молекул и ферментов репарации ДНК. Каспаза-3 считается универсальным индикатором апоптотической активности клетки, ее активация играет значимую роль в апоптозе нейронов и считается терминальным событием, предшествующим гибели клетки [462]. Внешний путь активации каспазы-3 является каспазо-8-зависимым и инициируется посредством связывания лигандов смерти со своими рецепторами. Внутренний каспазо-9-зависимый путь связан с высвобождением цитохрома С из митохондрий [400].

Каспазезависимые механизмы гибели клетки также играют важную роль в патогенезе ИИ [10].

Установлено, что глутаматная эксайтотоксичность при развитии ИИ приводит к активации поли-АДФ-рибозил-полимеразы в ядре нейронов, в результате чего в нем синтезируется и накапливается поли-АДФ-рибозил-полимер. Затем этот полимер перемещается в цитозоль. Там он связывает и активирует апоптозиндуцирующий фактор (англ. apoptosis inducing factor, сокращенно AIF) на цитоплазматической поверхности наружной мембраны митохондрий [304]. После этот комплекс ассоциируется со специфической нуклеазой и, перемещаясь в ядро, инициирует разрушение ДНК [221]. В отсутствии повреждений мембраны митохондрий апоптозиндуцирующий фактор играет важную роль в их энергетическом метаболизме. Его преобладающее количество располагается на внутренней митохондриальной мембране [453].

Морфологическими признаками апоптоза, которые можно зафиксировать при световой и флуоресцентной микроскопии, являются: агрегация цитоплазматических филаментов, разрушение цитоскелета, буллезное выпячивание цитоплазматической мембраны, сморщивание клетки с ее последующей фрагментацией. Все вышеперечисленное приводит к изменению формы клетки. К основным изменениям клеточного ядра при реализации апоптоза этой клеткой можно отнести конденсацию хроматина,

фрагментацию ДНК, кариопикноз и кариорексис. Установлено, что при инициации апоптоза, клетка утрачивает прежние межклеточные взаимодействия. Ее мембрана сжимается, а цитозольные компоненты упаковываются в апоптотические тельца. Последние устраняются фагоцитирующими клетками, распознающими фосфатидилсерин, который обычно находится на внутренней стороне клеточной мембраны и появляется на наружной при завершении программы апоптоза. Вышеуказанные процессы сопровождаются экспрессией ряда специфических белков, которые можно использовать как маркеры реализации апоптоза в клетке [433].

Апоптоз может быть инициирован многими факторами. К ним можно отнести отсутствие достаточной внешней стимуляции: недостаток фактора роста [191], сенсорную депривацию [339], субстратный дефицит [425]. Также причиной может быть избыточная стимуляция нейромедиаторами [237], повреждение клеточных органелл или сигнальных платформ [320], повреждение митохондрий [240], генотоксическое воздействие, ДНК-нацеленное цитотоксическое воздействие, ингибирование отдельных внутриклеточных сигнальных путей [522].

Нейроны могут экспрессировать на своей поверхности рецепторы апоптоза. Их взаимодействие со своими лигандами приводит к инициации в нейроне внешнего каспаззависимого пути апоптотической гибели. Наличие одних факторов индукции апоптоза в клетке, как правило, приводит к появлению и усилению других. Так, стресс эндоплазматического ретикулума приводит к индукции регулирующих инициацию апоптоза рецепторов и активации каспазы-8 [320]. Активация каспаз в свою очередь может инициировать митохондриальные механизмы реализации апоптоза [400].

Разнообразие инициирующих апоптоз стимулов отражается в разнообразии уровней и типов проведения проапоптотических эффектов внутри клетки, а также на преобладающих механизмах их регуляции [217].

Регуляция апоптоза обычно представляется, как результат взаимодействия проапоптотических и антиапоптотических факторов [512].

В регуляции клеточной гибели большое значение придают транскрипционному фактору p53. Этот проапоптотический фактор связан с инициацией каспазезависимого и внутреннего каспазависимого путей апоптоза. В цитоплазме клеток в неактивном состоянии p53 связан с E3-убиквитин-лигазой. При критическом изменении биохимического окружения клетки с угрозой повреждения ДНК этот комплекс распадается. Затем происходит стремительное накопление активного p53 в цитоплазме, потом в ядре. Это приводит либо к остановке клеточного цикла с последующей репарацией поврежденной ДНК, либо к инициации апоптоза через увеличение активности белков семейства Bcl-2 - ключевых регуляторов проницаемости наружной мембраны [142].

На реализацию в клетке апоптоза оказывают значимое влияние внутриклеточные ферменты класса киназ. Так, в экспериментах после индуцированной ишемии и черепно-мозговой травмы наблюдаются изменения экспрессии митогенактивированной протеинкиназы (от англ. mitogen-activated protein kinase, MAPK) клетками нервной системы. Ингибирование этого каскада приводит к уменьшению нейровоспаления и лучшему функциональному восстановлению у животных [650]. С другой стороны установлено, что сигнальный путь, центральной MAP-киназой которого является регулируемая внеклеточными сигналами киназа (от англ. extracellular signal-regulated kinase, ERK), необходим для реализации нейропластичности. Передача сигнала по этому пути может инициировать выживание, пролиферацию и увеличение подвижности глиальных клеток и нейронов. В целом множественность и разнонаправленность эффектов характерна для большинства ассоциированных с реализацией апоптоза биологически активных молекул [151, 582].

Одними из «внешних» индукторов апоптоза, играющих значимую роль в патогенезе ИИ, являются рецепторы смерти суперсемейства фактора некроза опухоли (от англ. tumor necrosis factor, TNF) и их лиганды. Лиганды и рецепторы внешнего пути клеточной смерти существуют в виде

мембраносвязанных (сокращенно «tm» от англ. transmembrane) и растворимых форм (сокращенно «s» от англ. soluble). Растворимые формы могут быть образованы, например, при действии матриксной металлопротеиназы, TNF-превращающего фермента. Экспрессия этих форм установлена в центральной нервной системе клетками микроглии, астроцитами, отдельными популяциями нейронов. В ряде экспериментальных исследований показано усиление транскрипции и накопление белков указанного суперсемейства в зоне ишемической полутени в ранние сроки после фокальной ишемии головного мозга, а также их повышенное количество или нарастание в отдаленные сроки [193, 507]. Мембранные Fas и TNF α рецепторы могут быть активированы как растворимыми, так и мембраносвязанными лигандами. В свою очередь растворимые формы рецепторов могут связывать и нейтрализовать свои лиганды [145].

Наиболее полно при экспериментальном ИИ изучены эффекты TNF α . В большинстве работ его рассматривают как индуцирующий апоптоз, провоспалительный и иммунорегуляторный цитокин [194, 383]. В центральной нервной системе он представлен растворимой (TNF α) и трансмембранной формами (tmTNF α). TNF α образуется путем отщепления от tmTNF α надмембранной части протеазой TNF α -превращающим ферментом. Сигналы tmTNF α и TNF α передаются через рецепторы TNF-R1 и TNF-R2. Результат связывания этих лигандов со своими рецепторами имеет особенности. Растворимая форма TNF α способна взаимодействовать с обоими рецепторами с высокой аффинностью, однако предпочтительно связывается с TNF-R1 [284]. Специфика взаимодействия зависит и от того, растворимым или мембраносвязанным является лиганд [113].

TNF-R1 экспрессируется всеми типами клеток и может быть активирован как мембраносвязанной, так и растворимой формой TNF α . В отличие от этого, TNF α -R2 экспрессируется преимущественно клетками иммунной системы, микроглии, эндотелиоцитами, нейροцитами и

взаимодействует только с tmTNF α , потенцируя действие рецептора 1 типа [622]. Связывание рецепторов TNF α с tmTNF α или даже антагонистами TNF α может индуцировать обратную передачу сигналов через tmTNF α , что приводит к активации клеток, супрессии цитокинов или апоптозу клетки, несущей tmTNF α [239]. Показано, что экспрессия TNF-R1 коррелирует с усилением гибели нейронов, а TNF-R2 участвует в реализации механизмов нейропротекции. Провоспалительные эффекты TNF α , вероятно, опосредованы взаимодействием TNF α с TNF-R1. Такое взаимодействие может приводить к активации двух основных, хорошо изученных путей. Первый из которых ведет к индукции антиапоптотических генов, главным образом посредством активации фактора транскрипции ядерного фактора-каппа В (NF- κ B). Второй - к активации программ клеточного самоубийства, включая апоптоз и некроптоз [145].

Существуют также растворимые формы TNF-R1 и TNF-R2 (соответственно sTNF-R1 и sTNF-R2), которые образуются путем альтернативного сплайсинга и в результате действия матриксной металлопротеиназы [590]. Обе формы sTNF-R способны связывать свой лиганд TNF α . При этом наибольшей афинностью к нему обладает sTNF-R1 [599]. В физиологических условиях TNF α не вызывает гибель клеток, если не заблокированы транскрипция, трансляция или путь NF- κ B. TNF-R2 не связан с индукцией апоптоза. Он преимущественно способствует росту клеток и регенерации посредством активации NF- κ B. TNF-R1 может быть активирован путем связывания либо TNF α , либо tmTNF α , тогда как TNF-R2 активируется только трансмембранной формой. Дополнительный уровень регуляции добавляется протеолитическим расщеплением внеклеточных доменов как TNF-R1, так и TNF-R2 [145]. Растворимые эктодомены растворимых обоих растворимых рецепторов могут связываться с TNF α , хотя и с низким сродством, и, таким образом, могут действовать как его естественные ингибиторы. Существуют и другие агонисты рецепторов TNF α . Например, лимфотоксин-альфа, который имеет значимую роль в иммунной

регуляции и, связывая оба типа рецепторов, опосредует главным образом передачу сигналов активации NF-κB [474].

Низкие базовые уровни TNFα в центральной нервной системе в физиологических условиях играют важную роль в модуляции глутаматергической синаптической передачи и обеспечении нейропластичности [554]. После экспериментального ИИ у крыс уровень TNFα в крови и цереброспинальной жидкости быстро и значительно повышается, достигая пика через 12-24 часа, и остается повышенным в течение нескольких дней [365]. Также роль системы TNFα в этиопатогенезе инсульта подтверждается исследованиями полиморфизма кодирующего его гена, который увеличивает восприимчивость к ИИ [585]. У мышей нокаутных по гену TNFα после экспериментального ИИ наблюдались более крупные инфаркты и более выраженный неврологический дефицит, чем у контрольных. Это свидетельствует о нейропротекторной роли TNFα, которая предположительно опосредуется, как уже упоминалось выше, через TNF-R1. Так, у мышей при блокировании действия TNF-превращающего фермента, предотвращающего образование TNFα, развиваются меньшие инфаркты, чем у контрольных животных [366].

Большой интерес представляет вопрос о роли системы Fas/FasL в патогенезе ИИ. В ряде работ отмечено повышение Fas и FasL в скомпрометированных участках мозга при различных неврологических расстройствах, в том числе и при ИИ [366]. Нейтрализация эффекта FasL посредством фармакологических субстанций или устранение на генетическом уровне функционирования системы Fas/FasL оказывало нейропротективный эффект при церебральной ишемии в эксперименте [636]. Эти данные позволяют рассматривать систему Fas/FasL как весьма значимую в патогенезе острого периода и развития отдаленных последствий ИИ.

При связывании мембранной или растворимой формы FasL с Fas, расположенным на мембране другой клетки, в ней может инициироваться проведение апоптотического сигнала. При этом домен DD (от англ. death

domain, домен смерти) Fas рецептора связывается с цитоплазматическим белком FADD (от англ. Fas-associated protein with death domain, Fas-распознающий белок с доменом смерти). FADD при помощи домена DED (от англ. death effector domain, реализующий смерть домен) ассоциируется с каспазой-8. Связанные между собой белки Fas, FADD и каспаза-8 образуют комплекс DISC (от англ. death-inducing signaling complex, индуцирующий смерть сигнальный комплекс). На этом этапе возможны несколько путей проведения сигнала внутри клетки в зависимости от ее типа и окружения. Первый вариант подразумевает взаимодействие Fas и Fas-лиганда со сборкой DISC и дальнейшей интернализацией рецептора со всеми связанными факторами. Далее комплекс DISC в результате расщепления прокаспазы-8 активирует каспазу-8. Та, в свою очередь, взаимодействует с прокаспазой-3, конвертируя её в активную каспазу-3. Каспаза-3 способна расщеплять такие белковые субстраты как ферменты репарации ДНК, цитоплазматические и ядерные структурные белки, белки веретена деления и эндонуклеазы. Также каспаза-3 активирует прокаспазы -6 и -7, которые могут ускорять реализацию апоптоза. Установлено, что повышенные уровни FADD и каспазы-8, но не каспазы-3, связаны с увеличением частоты ишемического инсульта [441].

Возможен второй сценарий развития событий, когда сборка DISC и последующая активация прокаспазы-8 затруднена регуляторными молекулами. В цитоплазме тогда образуется недостаточное для запуска апоптоза по вышеописанному пути количество каспазы-8. Также при расщеплении каспазой-8 белка Bid образуется его фрагмент tBid, который стимулирует встраивание белка Bax в митохондриальную мембрану, устраняя таким образом ее защиту белком Bcl-2 от утечки цитохрома C. После чего в цитоплазме из Apaf-1 (от англ. apoptosis protease-activating factor, активирующий фактор апоптотической протеазы-1), прокаспазы-9 и цитохрома C формируется апоптосома, высвобождающая каспазу-9. Вместе с цитохромом C из митохондрии освобождается SMAC (от англ. second mitochondria-derived activator of caspases, второй активатор каспаз,

полученный из митохондрий), который блокирует еще один противоапоптотический фактор XIAP (от англ. X-linked inhibitor of apoptosis protein, X-связанный белок ингибитор апоптоза). После чего каспаза-9 способна активировать прокаспазу-3 в каспазу-3. Домен DD обнаружен также в структуре RIP1 (от англ. receptor interacting protein 1, белок рецептор взаимодействия 1), поэтому его также считают активатором Fas-индуцированного апоптоза, реализуемого с участием прокаспазы-2 [574].

TNF α , относящийся к тому же суперсемейству рецепторов смерти, что и Fas, также может служить сигналом к гибели клеток путем инициации апоптоза [229, 487]. Его сигнальный путь начинается с активации TNF α специфических рецепторов TNF-R1 и TNF-R2 на поверхности клеток, после чего при участии многофункционального домена смерти TRADD (от англ. Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain, домен смерти, ассоциированный с рецептором к фактору некроза опухоли 1-го типа), рекрутирующего два дополнительных сигнальных белка RIPK1 (от англ. Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1, взаимодействующий рецептор серин-треониновой протеинкиназы 1) и FADD запускает каскады биохимических реакций, характерные для выше представленного внешнего пути каспазависимого апоптоза [618].

Работы отдельных исследовательских групп показали наличие положительной связи между степенью повреждения головного мозга в результате его локальной ишемии, выраженностью неврологических проявлений и содержанием TNF α в крови, а также растворимых рецепторов к TNF α [366, 618]. Однако не доказана динамика и прогностическое значение указанных факторов на достаточной выборке, в группах с различными патогенетическими подтипами ИИ, влияние на темп восстановления в остром периоде ИИ, возможная зависимость от особенностей нейрогуморальной регуляции.

Несмотря на большие успехи исследователей прошлого и современности тема регуляции апоптоза и условий его полноценной

реализации в норме и при патологии недостаточно раскрыта, что находит отражение в проблемах клинического использования этих достижений в различных направлениях медицины, в том числе и неврологии [366, 584].

Установление факта инициации апоптоза, а также активации в клетке апоптозиндуцирующих каскадов не всегда означает, что эта клетка погибнет вообще или погибнет посредством реализации апоптоза [216, 253, 582]. Например, в некоторых типах нейронов выявлена способность уходить от летального эффекта повышения проницаемости наружной мембраны митохондрий путем ингибирования каспазной активности различными способами, включая низкую экспрессию Araf-1 или деградацию цитохрома с [269]. Также в ряде экспериментальных работ убедительно показано что взаимодействие рецепторов смерти со своими лигандами не всегда приводит клетку к апоптозу [260].

При этом апоптотический сигнал может оказывать эффекты, способствующие восстановлению и адаптации клеточной популяции к условиям, запустившим механизмы апоптоза. Можно выделить внешние и внутренние эффекты апоптотически умирающей клетки. Внешние - направлены на ее замещение. Внутренние - на восстановление и адаптацию, когда инициация апоптотического каскада приводит к реализации отличных от апоптоза функций реализующих его белков [313].

Fas как наиболее изученный из рецепторов смерти в центральной нервной системе, дает пример того, насколько расходятся опосредованные ими биологические эффекты в нейронах [204, 364, 495, 600].

Активация внутриклеточного сигнального пути Fas может позитивно влиять на индукцию нейрогенеза [495] и нейритогенеза [226], что показывает его нейропластический потенциал. Так активация Fas моноклональными антителами в культуре нейронов может приводить к усилению «ветвления» нейронов посредством формирования новых аксонов. При этом экспериментально показано, что Fas запускает этот процесс через связывание с доменом смерти DD. Также Fas может регулировать ветвление нейронов

посредством фосфорилирования отдельных компонентов цитоскелета, например, микротубулин-ассоциированного Тау-протеина, который связывается с микротрубочками зависимым от фосфорилирования образом. Такое взаимодействие способствует стабильности микротрубочек. При экспериментальном введении FasL в культуру нейронов найдены более высокие уровни дефосфорилированного Тау [293, 659]. В экспериментальных работах на линиях клеток и первичных культурах нейронов коры головного мозга эмбрионов мышей показано, что Fas непосредственно регулирует морфологическую структуру нейронов, минуя активацию апоптоза. Описан цитоплазматический мембранный проксимальный домен, входящий в структуру всех членов суперсемейства TNFR, необходимый для Fas-индуцированного процесса роста. Этот домен привлекает эзрин, который соединяет трансмембранные белки цитоскелета и активирует короткоцепочечную ГТФазу Rac1. Эзрин-ингибирующий пептид предотвращает Fas-индуцированный нейрогенез в первичной культуре нейронов [511].

Описано семейство Fas ингибирующих молекул (англ. Fas Apoptotic Inhibitory Molecule, Faim). В него включены три молекулы FAIM1, FAIM2, FAIM3, которые имеют различную структуру и демонстрируют различные закономерности экспрессии в организме [480, 495]. Молекула FAIM2, исходя из характеристик ее белковой структуры, включена также в другое семейство белков, содержащих мотив трансмембранного ингибитора Вах-1 (англ. Transmembrane Bax Inhibitor Motif, TMBIM), другое название - Life Guard (Lfg, от англ. Life Guard - спасатели). Белки Lfg связаны с различными внутриклеточными процессами такими, как апоптоз, поддержание кальциевого гомеостаза, аутофагия и лизосомальная функция, что находит отражение в их запутанной номенклатуре [295]. FAIM2 является вторым членом этого семейства и имеет другие названия - Lfg2, или TMBIM2. Существует еще один синоним, исходя из преимущественной экспрессии нейронами и массы - нейрональный мембранный протеин, весом 35 кД (англ.

neuronal membrane protein 35, NMP35). Конститутивная экспрессия FAIM2 в культивируемых гранулярных нейронах мозжечка предотвращает апоптотическую гибель, вызванную Fas лигандом [247]. Защитные эффекты FAIM2 в культивируемых нейронах также были описаны для клеток Пуркинье и корковых нейронов [312]. Недостаток FAIM2 у мутантных мышей вызывает повышение восприимчивости к комбинированной кислородно-глюкозной депривации в первичной культуре нейронов *in vitro*, а также к усилению ассоциированной с каспазами-8 и -3 гибели клеток, увеличению объема пораженной ткани и выраженности неврологических нарушений после церебральной ишемии *in vivo* [494]. Существует мнение, что в остром периоде ИИ и других острых состояниях, связанных с воспалением, повышение экспрессии FAIM2 приводит к уменьшению апоптоза нейронов. В последующих отдаленных периодах снижение представленности этого белка на нейрональной мембране обусловлено неапоптотическими функциями системы Fas, направленными на регенерацию [247]. Нейроны, экспрессирующие FAIM2 устойчивы к апоптотической гибели, вызванной активацией рецепторов смерти, таких как Fas или TNF-R1. Блокирование эндогенной экспрессии FAIM2 в эксперименте показало, что этот белок защищает первичные нейроны от индуцированной активацией рецепторов смерти гибели клеток. Детальный анализ этого антагонизма выявил, что FAIM2 может связываться с рецептором Fas и предотвращать активацию инициатора каспазы-8, индуцированную Fas, а также может быть ответственным за поддержание каспаз в неактивной форме после активации рецептора, защищая нейроны от цитотоксического действия лигандов смерти [247]. Показано, что недостаток FAIM2 вызывает повышение чувствительности к комбинированной кислородно-глюкозной депривации в первичных нейронах мутантных FAIM2-дефицитарных мышей *in vitro*, к усилению их каспазассоциированной гибели, увеличению объема пораженной ткани и неврологического дефекта после церебральной ишемии

in vivo. Причем эти процессы восстанавливались путем лентивирусного переноса гена FAIM2 [494].

Описан также антиапоптотический сигнальный путь, индуцируемый системой Fas/FasL. В случае если интернализация рецептора не происходит, сборка комплекса DISC осуществляется очень медленно, и активирующий сигнал получают каскад MAPK и NFκB-путь. Эти эффекторы способствуют выживанию клетки. Активация MAPK и NFκB через рецептор Fas происходит также и при его интернализации [189].

Семейство MAPK (от. англ. mitogenactivated protein kinase, активируемая митогеном протеинкиназа) состоит из трех основных групп: ERK1/2 (от. англ. extracellular signal-regulated kinase, киназы, регулируемые внеклеточными сигналами), JNK (от. англ. c-Jun Nterminal kinases, c-Jun N-терминальные киназы, они фосфорилируют фактор транскрипции c-Jun) и протеин p38 [437].

В ответ на внеклеточный стимул киназы MAPK координируют широкий спектр клеточных процессов, таких как уровень метаболизма, подвижность, митоз, дифференцировка, воспаление, гибель и выживание. Активация ERK1/2 преимущественно связана с выживанием нейронов при воздействии повреждающих стимулов, пролиферацией, дифференцировкой нейронов и спраутингом [345, 472, 510].

Количество фосфорилированной ERK возрастает в отдельных участках мозга в условиях экспериментального ИИ, причем наибольшая выраженность экспрессии данной киназы обнаружена в зоне пенумбры нежели в ядре ишемии. На моделях глобальной ишемии головного мозга показана наиболее выраженная экспрессия ERK в участках, устойчивых к действию гипоксии [254]. В клетках спинальных ганглиев связывание Fas со своим лигандом приводит к DD-независимой активации ERK с последующим удлинением аксонов при отсутствии апоптотического эффекта [226]. Установлено, что сигнальный путь ERK принимает участие в регуляции синаптической пластичности и фосфорилирования транскрипционного фактора p53 [631].

ERK1/2 может также индуцировать транскрипцию ранних генов *c-fos* и *c-Myc*, продукты которых являются транскрипционными факторами и обеспечивают транскрипцию поздних генов, ответственных за пролиферацию, выживание и подвижность клеток. Показано, что *c-fos* и ERK можно использовать в качестве маркеров активации нейронов, например, после болевой стимуляции и повреждения тканей, при этом динамика ERK гораздо более динамична и, по-видимому, является лучшим маркером центральной сенситизации [270].

В экспериментальных исследованиях на моделях локальной ишемии-реперфузии головного мозга у крыс показано, что экспрессия *c-fos* начинается сразу после реперфузии. При этом экспрессия *c-fos* регистрируется как в перинфарктной зоне, так и в удаленных от очага ишемии зонах мозга [623]. Существует точка зрения о ключевой роли *c-fos* в обучении и памяти. Она основана на следующих данных. Во-первых, опыт обучения достоверно повышает экспрессию *c-fos*. Во-вторых, оптогенетическая активация экспрессирующих *c-fos* нейронов поддерживает обучение и память. В-третьих, ген-мишень *c-fos/AP-1* в активированных нейронах, кодирующий тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 и матриксную металлопротеиназу-9 (англ. Matrix metalloproteinase 9, MMP-9), играет важную роль в синаптической пластичности, которая лежит в основе обучения и памяти [332]. При этом известно, что MMP-9 играет важную роль в поддержании баланса растворимых и мембраносвязанных форм регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов, в частности систем Fas и TNF α [369].

TNF α , равно как и Fas, может запускать процессы адаптации ткани мозга к ишемии и репарационных процессов после нее. Индукцию синтеза TNF α и ERK1/2 при дозированных физических упражнениях связывают с процессами восстановления функционирования гемато-энцефалического барьера. TNF α способен также вызывать экспрессию генов, способствующих ангиогенезу в зоне ишемии [27, 401].

Посредством локальной активации регулирующих апоптоз сигнальных путей в нейроне обеспечивается прунинг дендритов и аксона [528]. Было показано, что при элиминации синапсов происходит активация каспазы-3 и митохондриального пути апоптоза [244]. В культуре нейронов при фотоиндукции каспазы-3 в определенных дендритных областях внутри фотостимулированной области происходила локальная элиминация дендритных шипиков и ретракция дендрита, не приводя при этом к клеточной смерти. Фармакологическое ингибирование блокатора протеинов апоптоза или протеасомной функции приводило к гибели нейронов, из чего можно сделать вывод, что активация каспазы пространственно ограничена своеобразными «молекулярными тормозами» [243]. Локальная индукция апоптозиндуцирующих сигнальных систем приводит к появлению одного из участников каскада иммунного компонента C1q на мембране подлежащего элиминации нейрита, что провоцирует его дальнейший фагоцитоз микроглиоцитами [292]. Прунинг - один из механизмов ремоделирования нейронных сетей. Он является патогенетическим и саногенетическим процессом при ИИ [183].

Таким образом, альтернативные эффекты внутриклеточных биохимических каскадов связанных с реализацией апоптоза, имеют большое значение для адаптации к изменению окружающей среды на разных уровнях рассмотрения (от отдельного нейрона до целостного организма). Большой объем экспериментальных данных показывает значимость этого заключения и при рассмотрении патогенеза ИИ. При этом клиническое применение этих знаний невозможно без интегрирующей концепции патогенеза ИИ.

Еще одно значение внутриклеточного апоптотического сигнала заключается в индукции целого ряда внешних эффектов, которые направлены на восстановление и адаптацию клеточной популяции к условиям, инициировавшим апоптоз. Установлено, что апоптотические клетки могут вызывать пролиферацию окружающих их клеток [375]. Как физиологическое событие, этот феномен, видимо, позволяет

«контролировать» замену погибающих клеток новыми в ткани в рамках нормального обмена. На этом же принципе основана реакция заживления после обширного повреждения. Этот процесс хорошо изучен у *Drosophila melanogaster*. На этих насекомых было показано, что клетки имагинального диска, подвергающиеся апоптозу, активируют передачу сигналов посредством митогенов, что способствует пролиферации соседних клеток [516].

В настоящее время не подлежит сомнению, что в головном мозге взрослых млекопитающих имеются клетки предшественники нейронов. Они идентифицированы не только в гиппокампе, обонятельной луковице, но и в неокортексе. На протяжении всей «взрослой» жизни нейроны постоянно замещаются новыми клетками [340, 457]. Клетки-предшественники нейронов присутствуют в ишемически поврежденной коре головного мозга взрослых крыс, они способны дифференцироваться в астроциты и незрелые нейроны, но большинство нейронов не достигают зрелой стадии [378]. Различные факторы могут модулировать нейрогенез. Активируют нейрогенез физические упражнения, обогащение среды обитания, беременность, ишемическое повреждение. Подавляют - дистресс и старение [386, 390]. Нейрогенезу препятствует также нейровоспалительный процесс, причем блокирование воспалительного ответа его восстанавливает. Экспериментальные данные относительно влияния провоспалительных цитокинов на нейрогенез противоречивы. Однако обобщая все полученные результаты, можно сделать вывод, что воспаление подавляет нейрогенез и активируют глиогенез [178]. Большинство предшественников нейронов не достигают зрелой стадии – они погибают при помощи различных видов программируемой клеточной смерти [378].

Долгое время было неясно, каким образом ишемия может активировать процессы нейрогенеза. Затем были опубликованы экспериментальные работы, результаты которых свидетельствуют о том, что апоптотическая гибель незрелых нейронов после транзиторной ишемии/реперфузии

переднего мозга у мышей инициирует нейрогенез через сигнальный путь киназы гликогенсинтазы-3 β , которая в свою очередь опосредуется микроглиальным инсулиноподобным фактором роста-1 (ИФР-1). Кроме того, блокирование апоптоза незрелых нейронных клеток, ранней активации микроглии или ИФР-1 приводят к ослаблению индуцированного ишемией нейрогенеза [340]. Так же было показано, что индуцированный дифтерийным токсином апоптоз нейронов IV слоя соматосенсорной коры грызунов в раннем послеродовом периоде приводит к массивному распространению недифференцированных пулов клеток предшественников [473].

Установлено, что после экспериментального ИИ в регуляции пролиферации и дифференцировки зрелых прогениторных клеток субвентрикулярной зоны участвует сигнальный путь трансмембранных рецепторов Notch. Посредством активации этого сигнального пути может происходить регуляция апоптоза, усиление пролиферации, ослабление дифференцировки, эпителиально-мезенхимальная трансформация [608]. Notch1 представляет собой трансмембранный рецептор, который регулирует решения о судьбе клеток в развивающейся нервной системе и мозге взрослого человека [605]. Связывание лигандов Notch приводит к протеолитическому расщеплению Notch1 γ -секретазой и образованию внутриклеточного домена Notch1, который способен перемещаться в ядро и регулировать транскрипцию генов. Было продемонстрировано, что активация Notch1 ухудшает исход инсульта за счет стимуляции лейкоцитарной инфильтрации и вызванных микроглией воспалительных реакции. При этом значение Notch1 в нейронах после ишемического инсульта в индукции проапоптотических каскадов еще не выяснено [198]. Установлена роль сигнального пути Notch, опосредованного γ -секретазой, в индукции гибели нейрональных клеток посредством ядерного фактора- κ B (NF- κ B), в сотрудничестве с индуцируемым гипоксией фактором-1 α (HIF-1 α), его вклад в путь митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), что имеет решающее

значение для индукции апоптоза нейронов после ишемического инсульта [197]. При этом активация Notch1 сигнального пути играет решающую роль в обеспечении пространственного обучения, памяти, синаптической пластичности в обычном состоянии, при физических нагрузках и после экспериментального травматического повреждения головного мозга у крыс [197, 643].

Таким образом, в настоящее время накопился достаточно большой объем исследований, однозначно раскрывающих на клеточном и молекулярном уровне отдельные процессы и механизмы, активирующиеся после ИИ. Однако до сих пор нет обобщающей эти данные патофизиологической концепции, применимой для использования практикующими неврологами, реабилитологами и клиническими фармакологами. Исходя из анализа литературы, интерпретация роли апоптоза, лишь как одной из ведущих причин уменьшения количества нейронов после ИИ и потому имеющей исключительно негативную значимость для его клинического течения, устарела. Необходимо формирование современного понимания роли этого процесса, а также его механизмов при ИИ. Именно этой проблеме посвящена настоящая диссертационная работа.

1.2 Закономерности нейрогуморальной регуляции при ишемическом инсульте

Нейрогуморальная регуляция играет существенную роль в формировании факторов сердечно-сосудистого риска и формировании условий в организме для развития ИИ [74]. При этом показано ее влияние на течение и исходы острого периода ИИ [428].

Эта двойственная роль нейрогуморальной регуляции обеспечивает связь и объясняет закономерности взаимодействия внешней и внутренней среды до развития ИИ, в его острейшем и отсроченном периодах. [352]. Изучение и понимание этих закономерностей позволит моделировать

причинно-следственные связи внешних воздействий на организм и особенностей его ответа на них.

Нейрогуморальный ответ на развитие церебральной ишемии является компонентом интегральной реакции организма. Реакция стрессреализующей системы рассматривается как центральная, так как она во многом определяет метаболическую и регуляторную основу компенсаторно-приспособительных изменений [123].

При ИИ происходит активация стресс-реализующих систем организма [166]. В ряде исследований показано, что у пациентов при ИИ выявляется повышенный уровень в сыворотке крови кортизола и/или катехоламинов, высокая концентрация которых является предиктором летального исхода. При этом данные относительно динамики, уровня и качества изменения нейрогуморальной регуляции крайне противоречивы [426].

В формировании ответа на стрессовое воздействие участвует вся эндокринная система, однако традиционно выделяют два основных стресс-реализующих направления: гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую (ГГНС) и симпато-адреналовую (САС) системы. Основным эффектором первой является кортизол, второй – адреналин и норадреналин [245].

Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система - главная нейроэндокринная система, ответственная за поддержание гомеостаза организма, адаптацию к факторам внешней среды и выживание при стрессовом воздействии. Ее основные анатомические структуры - паравентрикулярное ядро гипоталамуса, гипофиз и кора надпочечников. Нормальное функционирование ГГНС приводит к секреции надпочечниками глюкокортикоидов в ритмическом и импульсном режиме. Глюкокортикоиды играют важную роль в обеспечении жизнедеятельности организма, регулируя обмен веществ, пищевое поведение, активность сердечно-сосудистой и иммунной систем. Циркадианное и стресс-индуцированное увеличение уровня глюкокортикоидов необходимо для функционирования нейронов

гиппокампа, консолидации памяти, образования возбуждающих синапсов и роста дендритов [245].

В физиологических условиях основным индуктором синтеза глюкокортикоидов посредством стимуляции меланокортиновых рецепторов 2 типа в пучковой зоне коркового вещества надпочечника является адренокортикотропный гормон (АКТГ). Влияние АКТГ на надпочечники имеет как «острый», так и фоновый характер. «Острый» эффект опосредован активностью стероидогенного активного регуляторного протеина (от англ. *steroidogenic acute regulatory protein*, StAR), который необходим для перемещения экзогенного холестерина из цитозоля к внутренней мембране митохондрий, где происходит отщепление боковой цепи холестерина [371, 410]. Фоновый эффект АКТГ обусловлен ускорением синтеза и накопления ферментов стероидогенеза. Секреция гипофизом АКТГ стимулируется выработкой нейронами паравентрикулярного ядра гипоталамуса, а также нейронами лимбических структур (миндалины, голубого пятна) кортикотропин-релизинг-гормона. Это действие усиливается аргинин вазопрессином (АВ), который также продуцируется нейросекреторными клетками паравентрикулярного ядра гипоталамуса. Катехоламины посредством активации α_1 -адренэргических рецепторов, а также ряд цитокинов, в частности интерлейкинов ИЛ-1, ИЛ-6 и $\text{TNF}\alpha$ усиливают секрецию АКТГ. К активации ГГНС приводит и ангиотензин II через стимуляцию секреции кортикотропин-релизинг-гормона (КРГ), а также серотонин через активацию серотонинэргических нейронов ядер шва [245].

К механизмам down-регуляции ГГНС относят механизм обратной связи, когда глюкокортикоиды подавляют экспрессию и высвобождение КРГ с аргинин вазопрессином на уровне гипоталамуса, а на уровне гипофиза секрецию АКТГ и транскрипцию его предшественника — проопиомеланокортина [245].

Известен механизм внутринадпочечникового подавления синтеза глюкокортикоидов при стрессовом воздействии, сопровождающимся

выбросом большого количества АКТГ в периферическую кровь, за счёт активации рецепторов минералокортикоидов [601]. Активность глюкокортикоидов в крови и тканях может регулируется и связыванием кортизола белками плазмы крови, метаболическими процессами в печени, скоростью выведения почками, а также активностью фермента 11 β -гидроксистероид-дегидрогеназы, который превращает неактивный глюкокортикоид 11-дезоксикортизол в активные глюкокортикоиды [245]. В головном мозге глюкокортикоид 11-дезоксикортизол наиболее представлен в гиппокампе, мозжечке, а также в нейронах и глиоцитах префронтальной коры [331].

На уровень кортизола в крови влияет степень чувствительности/резистентности минералокортикоидных рецепторов. При этом носители аллелей со сниженной чувствительностью к кортизолу характеризуются более высоким уровнем кортизола и в покое, и на фоне стрессовых нагрузок [245].

Рецепторы к стероидам надпочечников представлены по всей центральной нервной системе. Однако специфические области лимбической системы и коры головного мозга, на которые воздействуют гормоны стресса, играют ключевую роль в интеграции поведенческих и физиологических реакций во время стресса и адаптации к последующим стрессорам [82]. Когда стрессор имеет чрезмерную силу и/или длительность, возможны изменения пластичности мозга, снижающие его способность соответствующим образом реагировать на последующие стрессорные воздействия [331].

Другую условно выделяемую стресс-реализующую систему - симпатoadреналовую - составляют симпатическая система и мозговое вещество надпочечников. Первая оказывает свое влияние как непосредственно на симпатические нервные окончания, так и косвенно через мозговое вещество надпочечников на циркулирующие катехоламины адреналин (А) и норадреналин (НА). Каждая из этих двух систем может активироваться преимущественно различными стимулами. Воздействие

холода, поструральные изменения в первую очередь влияют на активность симпатической системы, тогда как умственные усилия, прием кофеина считаются относительно селективными стимулами для мозгового вещества надпочечников. Известно также, что Т-клетки иммунной системы могут секретировать катехоламины. Принимая во внимание роль симпатической системы в обмене веществ, можно выделять ее нервные и гуморальные эффекты [4, 45, 245].

Адреналин участвует в ряде физиологических функций, включая регуляцию кровяного давления, вазоконстрикцию, сердечную стимуляцию и регулирование уровня глюкозы в крови [4, 245, 331].

Норадреналин имеет два пути воздействия на ткани. С одной стороны, он является нейромедиатором, который обеспечивает химическую передачу нервного импульса в норадренергических синапсах центральной и периферической нервных системах. С другой – гормоном, действие которого преимущественно связано с влиянием на α -адренорецепторы. Баланс между нейрональным и плазменным норадреналином является контролируемой переменной симпатической системы и определяет суммарный эффект норадреналина [213]. Нейрональный норадреналин стимулирует ткани путем диффузии от симпатических нервных окончаний, плазменный норадреналин - путем диффузии из микроциркуляторного русла. Изменения в микроциркуляторном русле оказывают влияние на действие норадреналина плазмы крови и считаются ответственными за изменение норадренергического баланса в периферических тканях. Предполагается, что в центральной нервной системе имеет место такое же взаимодействие, где должен соблюдаться баланс между синаптическим норадреналином и несинаптическим норадреналином в ликворе и микроциркуляторном русле [213, 214]. Таким образом, содержание норадреналина плазмы крови оказывает модулирующее действие на работу норадренергической системы головного мозга. Большинство норадреналина в головном мозге вырабатывается нейронами в пределах голубого пятна и участвует в

обеспечении разнообразных моторных и психических функций, включая контроль локомоции, мотивацию, внимание, познание и память. Он также регулирует дифференцировку, пластичность и выживаемость нейронов как в развивающемся, так и в зрелом мозге [331]. Кроме того, показана роль норадреналина в компенсаторных механизмах, на острые повреждения головного мозга, в определении прогрессирования нейродегенеративных расстройств, таких как болезни Паркинсона и Альцгеймера [657].

Существует точка зрения, что катехоламины могут претендовать на роль медиаторов, обеспечивающих эффект ишемического preconditionирования. Например, мобилизация эндогенных катехоламинов перед коронароокклюзией способствует повышению устойчивости сердца к патогенному действию ишемии и реперфузии [57].

Преобладание эффектов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой или симпато-адреналовой систем отражает тип реакции на стрессовое воздействие, а также характер используемой в рассматриваемой ситуации копинг-стратегии [83, 430]. Копинг можно определить как совокупность поведенческих и когнитивных усилий, применяемых индивидами, чтобы справиться со взаимоотношениями индивид-среда [50]. Это динамичный процесс, состоящий из серии ответных реакций, посредством которых человек и окружающая среда взаимно влияют друг на друга. В зависимости от успеха или неудачи этого процесса, копинг может быть определен как функциональный (адаптивный) или дисфункциональный (усиливающий стресс) [80, 368].

Показано, что преобладающий тип копинг-стратегии влияет на успешность реабилитационных мероприятий, на оцениваемое по различным шкалам качество жизни после ИИ, а также на риск развития повторного ИИ [184]. Результаты ряда исследований показали также, что неадаптивные копинг-стратегии при ИИ ассоциированы с депрессией и худшим исходом [69, 593, 615].

Lazarus и Folkman в зависимости от индивидуальной интерпретации ситуации, как неизбежной, или как изменяемой различают две основных группы копинг-поведения: активный и пассивный копинг [368]. Ряд авторов приравнивают понятия проактивный и адаптивный копинг у пациентов, перенесших инсульт, считая при этом социальную активность основной мерой качества восстановления [69].

Активное копинг-поведение – это целенаправленное поведение для устранения или избегания угрозы (борьба или отступление), предназначенное для изменения стрессовой связи с физической или социальной средой, оно ассоциировано с преобладанием эффектов симпато-адреналовой системы [430].

Пассивное копинг-поведение представляет собой интрапсихические формы преодоления стресса, являющиеся защитными механизмами, предназначенные для снижения эмоционального возбуждения раньше, чем изменится ситуация. Установлено, что при данном типе реакции на стрессовое воздействие преобладающее действие оказывает гипоталамо-гипофизарная система и основной посредник ее эффектов кортизол [321]. В экспериментах на здоровых добровольцах показано достоверное повышение кортизола после пассивного болевого стресса, тогда как при воздействии активного «когнитивного стресса» отмечается его достоверное снижение [331].

Для депрессивного расстройства также характерен повышенный уровень кортизола и отклонения в суточном ритме его секреции, что приводит к повышению внимания к негативным стимулам и угнетает сложные когнитивные процессы. При этом по мере увеличения продолжительности депрессивного расстройства происходит постепенная модификация функционирования всей гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [331]. Преобладание при стрессорном ответе в периферической крови адреналина над дофамином и норадреналином

коррелирует с низким уровнем стресса, соматизации и депрессии, преобладание норадреналина связано с высоким уровнем соматизации [330].

Депрессия развивается примерно у каждого третьего больного, перенесшего ИИ, затрудняет восстановление и реабилитацию, снижает социальную активность и усугубляет инвалидность. У пациентов с постинсультной депрессией чаще встречается снижение когнитивных функций и выше смертность [505].

Возникновение постинсультной депрессии в первые 7–10 дней с момента развития инсульта ассоциируется с нарастанием инвалидности по индексу Бартел в ближайшие 1 и 2 года. Развитие депрессии ассоциировано с преобладанием у пациента пассивных копинг-стратегий и дисбалансом в регуляции ответа стресс-реализующих систем [615].

Существует также обоснованное мнение, что в патогенезе постинсультной депрессии значимое место занимают механизмы асептического воспаления. Это объясняют тем, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, TNF α в крови у больных после инсульта может нарушать метаболизм серотонина в головном мозге, переключая метаболизм триптофана на кинуренин [43]. Также провоспалительные цитокины могут вызывать апоптоз нейронов и глиоцитов в лимбических областях головного мозга, поражение которых вызывает аффективные расстройства. Показано, что у больных с депрессией уровень TNF α и ИЛ-6 достоверно выше, чем у пациентов контрольных групп. При этом использование антидепрессантов в адекватных дозировках снижает уровень ИЛ-1, ИЛ-6, TNF α и интерферона- γ и уменьшает апоптоз нейронов в гиппокампе, височной коре и зубчатой извилине [317].

Активацией стресс-реализующих систем и повышенным высвобождением глюкокортикоидов и катехоламинов объясняют развитие иммунной недостаточности, которая сменяет первоначальную активацию защитных реакций иммунитета, у пациентов после ИИ и у животных после экспериментальной церебральной ишемии [420].

Первоначально, при развитии ИИ в мозговой ткани и в периферической крови происходит увеличение содержания провоспалительных агентов – ИЛ-6, TNF α , ИЛ-1 и других цитокинов [365, 543], которое отражает выраженность воспалительной реакции и коррелирует с объемом пораженной ткани, тяжестью и исходом заболевания, а также степенью выраженности системной воспалительной реакции. ИЛ-6 играет важную роль в общем контроле воспаления, в том числе, путем стимуляции секреции глюкокортикоидов. ИЛ-6 экспрессируется многими типами клеток, включая нейроны и глиальные клетки [543]. Плейотропизм ИЛ-6 заключается в том, что он вызывает принципиально разные клеточные ответы в зависимости от того, активирован ли классический или транс-сигнальный путь. Это зависит от системы рецепторов ИЛ-6. Она состоит из рецептора ИЛ-6, растворимого рецептора ИЛ-6 и гликопротеина 130 (gp130), цитоплазматический домен которого ответственен за передачу сигнала внутрь клетки [503].

В классической передаче сигналов ИЛ-6 связывается и образует комплекс с мембраносвязанным рецептором ИЛ-6, который затем рекрутирует gp130. Другой способ так называемой «транс-передачи» осуществляется путем связывания ИЛ-6 с растворимым рецептором ИЛ-6, а затем с gp130, закрепленным на мембране. Классическая передача сигналов ИЛ-6, как полагают, является противовоспалительной и защитной, в то время как транс-передача сигналов ответственна за провоспалительные эффекты, опосредованные ИЛ-6 [509].

ИЛ-6 экспрессируется в ЦНС в норме и влияет на гомеостаз нейронов, действуя в качестве нейротрофического фактора через классический сигнальный путь [509].

ИИ у мышей и крыс приводит к значительному увеличению уровней ИЛ-6 с 6 до 12 часов, а также рецептора ИЛ-6 и gp130 с 3-го дня после моделирования ИИ [285]. Обсуждается, что ИЛ-6 может оказывать нейропротективный эффект при экспериментальном инсульте. В клинических исследованиях показано, что у человека уровни ИЛ-6 в

сыворотке повышаются в течение первых суток после развития ИИ, и коррелируют с размером инфаркта и выживаемостью. Аналогичная корреляция не наблюдалась для растворимого рецептора ИЛ-6 [285]. Уровень ИЛ-6 в ткани мозга повышается уже в острой фазе после инсульта и остается повышенными в более поздние моменты времени [448]. В поддержку нейропротекторного эффекта ИЛ-6, приводятся данные, свидетельствующие о положительном влиянии ИЛ-6 на постинсультный нейрогенез, что способствует долгосрочному функциональному восстановлению [422].

ИЛ-6 является модулятором активности как воспалительного, так и стресс-реализующего ответа [245]. При воспалении, развившемся в результате ишемического поражения участка головного мозга последовательно секретируются ряд цитокинов, включая $\text{TNF}\alpha$, ИЛ-1 и ИЛ-6. С определенного момента ИЛ-6 начинает подавлять секрецию $\text{TNF}\alpha$ и ИЛ-1, активировать продукцию печенью белков острой фазы воспаления и стимулировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГГНС). При этом, через активацию ГГНС ИЛ-6 оказывает выраженное ингибирующее действие на лимфоидные органы и иммунные клетки [245, 448]. Указанная реакция, направленная на ограничение воспаления и аутоиммунного ответа, носит адаптивный характер. Однако, при избыточной выраженности она приводит к развитию инфекционных осложнений, которые являются одной из основных причин летального исхода при ИИ. Также она снижает и эффективность репаративных процессов [422].

Клинические исследования показали, что катехоламины оказывают иммунодепрессивное действие после инсульта. Повышенная активность симпатoadреналовой системы после инсульта связана с более высоким риском развития инфекционных осложнений [346]. Взаимодействуя с β_2 -адренорецепторами, катехоламины подавляют антигенпрезентирующую функцию дендритных клеток и моноцитов, индуцируют толерогенные дендритные клетки, вызывают анергию Т-лимфоцитов и генерацию регуляторных CD4^+ Т-клеток с супрессорной активностью (Treg). В модели

экспериментального ИИ показано, что Treg с первых дней и до конца острого периода присутствуют и пролиферируют в зоне ишемии головного мозга. С активацией симпатической нервной системы связывают сокращение селезенки и выход спленоцитов в циркулирующую кровь с последующей их миграцией в зону церебрального ишемического очага. Глюкокортикоиды активируют моноциты, которые подавляют в Т-клетках продукцию интерферона γ и ИЛ-17, индуцируют генерацию Treg. Возрастание уровня указанных медиаторов вызывает апоптоз лимфоцитов, Th1/Th2-переключение, атрофию первичных и вторичных лимфоидных органов, индукцию регуляторных Т-клеток [471].

Установлено, что активация адренергических рецепторов на клетках иммунной системы при гиперактивации симпатoadреналовой системы при ИИ во многом обуславливает развитие выраженной иммуносупрессии. Пациенты с повышенным уровнем кортизола и катехоламинов более чувствительны к развитию инфекционных осложнений, при этом антагонисты стероидов или β -адренорецепторов в моделях экспериментального инсульта предотвращают развитие апоптоза лимфоцитов и уменьшают чувствительность к инфекциям [484].

Таким образом, ИИ можно рассматривать как вариант длительного интенсивного стрессового воздействия. При этом следует ожидать, что закономерные изменения нейрогуморального обеспечения при ИИ, могут играть существенную роль в развитии его острого и последующих периодов, а также в формировании адекватного ответа на реабилитационные мероприятия и качество жизни больных, перенесших ИИ. Представленные в научной литературе клинические данные о концентрации и соотношении основных эффекторов стресс-реализующих систем после ИИ крайне противоречивы и разрозненны. В настоящее время не существует концепции патогенеза ИИ, которая бы учитывала влияние закономерностей изменений нейрогуморальной регуляции на процессы повреждения и репарации нервной ткани после ишемического воздействия.

1.3 Влияние нейрогуморальных механизмов регуляции на апоптоз нейронов

Ряд внешних и внутренних факторов, как до, так и после ишемического события, могут изменять восприимчивость к нему нейронов. И внутренние, и внешние факторы могут влиять на избирательную уязвимость различных типов нервных клеток [223]. Будучи модуляторами клеточной физиологии во всем организме, нейрогуморальные факторы могут оказывать влияние и на степень повреждения, вызванного ИИ. При этом даже умеренные отклонения их уровней, вызывающие незначительные метаболические нарушения или дисбаланс месенджеров соответствующих сигнальных путей, в сочетании с другими обстоятельствами могут оказывать значимый модулирующий эффект [652].

Считается, что апоптоз при развитии ИИ и в последующих периодах один из основных механизмов гибели потенциально функционально состоятельных нейронов [487, 519]. При этом, активация внутриклеточных сигнальных систем, связанных с апоптозом может приводить к широкому спектру эффектов: апоптозу, воспалению, прунингу, спраутингу, дифференцировке, нейрогенезу [364, 511, 659]. Все эти процессы с одной стороны необходимы для восстановления утраченных в результате сосудистой катастрофы структур и функций головного мозга. С другой - при несвоевременной и неадекватной по силе активации они могут оказывать выраженный негативный эффект [338, 367].

Таким образом, поиск внешних и внутренних условий направляющих ассоциированные с апоптозом внутриклеточные биохимические процессы является актуальной задачей для фундаментальной и клинической медицины. Нейрогуморальное обеспечение стресса, как совокупности неспецифических адаптационных реакций организма на воздействие различных факторов, вероятно, является связующим звеном и направляющим вектором в этом поиске.

Результаты исследований хронического влияния повышенных концентраций глюкокортикоидов на нейроны гиппокампа, префронтальной коры, амигдалы, передней поясной извилины и базальных ганглиев свидетельствуют, что именно пролонгированное воздействие кортизола является основной причиной апоптотической гибели нейронов гиппокампа при депрессии [635]. Гиппокамп - область мозга с высоким уровнем рецепторов к кортикостероидам. Неблагоприятное воздействие на гиппокамп длительно повышенного уровня глюкокортикоидов включает: индуцирование регрессии дендритных процессов; ингибирование нейрогенеза; снижение толерантности нейронов к ишемическому воздействию, действию метаболитических ядов, гипогликемии и генераторов свободных радикалов кислорода; повышению эксайтотоксического глутаматэргического эффекта NMDA рецепторов [12, 331].

Длительное воздействие глюкокортикоидов влияет также на структурную целостность и функции гиппокампа в условиях хронического стресса [635]. Хроническое стрессорное воздействие рассматривается как предрасполагающий и провоцирующий фактор депрессии, особенно у генетически предрасположенных людей [619].

Предполагается, что апоптоз является одним из ведущих механизмов, способствующим развитию связанной с воздействием стресса депрессии. Например, в эксперименте хроническое воздействие стресса в течение 28 дней вызывает уменьшение общего объема гиппокампа. При этом интенсивность апоптоза значительно снижается в радиальном слое аммонова рога, но увеличивается в области хилуса зубчатой извилины [402]. На экспериментальных моделях депрессии, предполагающих повторяющийся непредсказуемый стресс, было показано возрастание апоптоза нейронов и глиальных элементов в различных структурах головного мозга крыс [351]. Воздействие социального стресса перед моделированием ИИ значительно подавляет экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 [227]. В другом исследовании воздействие умеренного хронического стресса и выработка

состояния выученной беспомощности в течение 5 недель спровоцировало ангедонию, которая была ассоциирована с увеличением количества каспазо-3-позитивных нейронов в коре головного мозга [152]. Также она была ассоциирована с увеличением TUNEL-позитивных нейронов, каспазы-3 и белка Вах [394].

В ряде работ показано и антиапоптотическое действие кортизола. Например, кортизол уменьшал экспрессию мРНК каспазы-8, каспазы-3, уменьшал ферментативную активность каспазы-3 и гибель клеток, вызванную фактором некроза опухоли и интерфероном γ в культуре лютеиновых клеток [348]. В зависимости от преобладания минералокортикоидных или глюкокортикоидных рецепторов кортизол может стимулировать как пролиферацию, так и апоптоз в клетках Пуркинье сердца плода на поздних сроках беременности [251].

У грызунов и человека избыток глюкокортикоидов связан с негативным функциональным влиянием на возбудимость гиппокампа, процессы долговременного потенцирования, обучения и производительность памяти [331]. Структурные изменения включают обратимую атрофию дендритного дерева и обратимое ремоделирование синаптических терминальных структур [556].

Высокие уровни кортизола дозозависимо и оказывают антипролиферативное действие на нервные стволовые клетки и клетки-предшественники, находящиеся в субвентрикулярной зоне боковых желудочков, а также в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. [132]. Иммуногистохимические исследования продемонстрировали, что у самцов мышей 12-месячного возраста, которым в течение 21-го дня вводили глюкокортикоиды, в коре и CA1, CA3 области гиппокампа было значительно увеличено содержание белка-предшественника амилоида, каспазы-9, каспазы-3 и цитохрома c по сравнению с группой контроля [380].

Индукцированное избытком глюкокортикоидов повреждение пирамидных нейронов гиппокампа значительно снижается у животных,

которым вводили АКТГ. [530]. Послеродовое введение АКТГ ослабляет вызванную N-метил-D-аспартатом эксайтотоксичность в базальном ядре мозга крысы во взрослом возрасте, оказывая влияние на внутренние нейропротекторные механизмы и реактивность нейрональных и глиальных клеток после эксайтотоксического повреждения [309]. Защитное действие АКТГ от эксайтотоксического и связанного с воспалением повреждения *in vitro* распространяется и на олигодендроглию [388].

Кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ) в клеточном ответе на повреждающие раздражители, в том числе ишемическое повреждение, напротив, может способствовать гибели нейронов. Это наглядно показано предотвращением ассоциированных с апоптозом процессов антагонистами КРГ. Введение КРГ в мозг крыс влечет за собой прогрессирующий апоптоз нейронов СА3 зоны гиппокампа, независимо от концентрации глюкокортикоидов. Это происходит посредством индукции экспрессии лигандов регулирующей апоптоз системы Fas. При этом рецептор КРГ 1-го типа запускает активацию митоген-активируемой протеинкиназы p38, которая, как было установлено, необходима для индуцированного КРГ апоптоза и продукции Fas-лиганда. КРГ также способствует быстрой и временной активации ERK1/2 [245, 331].

На эпителиальных клетках амниона было показано, что кортизол может активировать систему тканевого активатора плазминогена/плазмина. Эта система, в свою очередь, способна активировать рецепторы Fas, что в итоге приводит к активации внешнего пути апоптоза. [612]. Плазмин способен расщеплять FasL в последовательности Arg144-Lys145 и таким образом высвобождать растворимый проапоптотический фрагмент FasL с поверхности мембраны клеток [153]. У пациентов с высоким риском полиорганной недостаточности уровни кортизола положительно достоверно связаны с количеством FasL-позитивных Т-хелперов и Т-киллеров [468]. Способность глюкокортикоидов активировать сигнальные каскады, сопряженные с системой Fas продемонстрирована и на клетках

репродуктивной системы. Показано, что они нарушают компетентность ооцитов и вызывают апоптоз в сперматозоидах и сперматогенных клетках посредством активации каскадов Fas [217].

Из анализа литературы следует, что закономерности взаимовлияния уровня эффекторов стресс-реализующих систем и регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных взаимодействий при ИИ в клинических условиях не изучены.

Более разработанным является вопрос взаимовлияния кортизола и TNF α при ИИ. Показано их сочетанное повышение в первые дни после развития ИИ [327]. При этом раннее повышение TNF α , равно как и уровня кортизола, в периферической крови коррелирует с тяжестью ИИ [159, 640].

Показано, что базальные уровни глюкокортикоидов важны для развития, пластичности и выживания нейронов. И в тоже время, стресс-опосредованные уровни глюкокортикоидов вызывают потерю нейронов, снижение взрослого нейрогенеза [245, 331].

Кортизол оказывает влияние на работу большинства систем головного мозга, сопряженных с обучением и памятью. Это влияние имеет U-образную зависимость концентрации и эффекта. Оптимальный эффект достигается при полной оккупации глюкокортикоидами минералкортикоидных рецепторов и половины глюкокортикоидных рецепторов гиппокампа в процессе обучения [620].

Нейрогуморальные факторы влияют на интенсивность гибели нейронов посредством некроза, в том числе через воздействие на индуцирующие апоптоз каскады. Так, глюкокортикоиды, кортикотропин-рилизинг-фактор, гормоны щитовидной железы и преишемическое воздействие катехоламинов увеличивают количество некротически измененных нейронов при моделировании церебральной ишемии. Эстрогены, инсулин и постишемическое воздействие катехоламинов, препятствуют некротической гибели нейронов [331].

Катехоламины могут действовать как эндогенные модуляторы гибели нейронов. Например, воздействие высоких доз (> 100 мкМ) дофамина вызывает апоптотическую гибель в культуре корковых нейронов мыши в течение 24 часов. В том же эксперименте адреналин проявлял незначительный токсический эффект для нейронов в дозах, превышающих 1 мМ, а норадреналин вовсе не приводил к их гибели. Несмотря на то, что норадреналин не проявляет выраженного токсического эффекта, его метаболит, 3,4-дигидроксифенилгликольальдегид, в другом экспериментальном исследовании приводил к гибели клеток нейрональной линии РС-12 с зависимой от времени и дозы интенсивностью. Адреналин, действуя на β -адренергические рецепторы, через Gs-РКА и β -аррестин-опосредованные сигнальные пути, запускает повреждение ДНК и подавляет уровень р53, синергетически приводя к накоплению повреждения ДНК. Под действием адреналина, вводимого животным под кожу в дозе 0,45–0,60 мг 1 раз в день в течение 10 дней не было выявлено значимого перераспределения уровня белка S-100b и поверхностных молекул адгезии N-CAM в коре головного мозга, гиппокампе и таламусе. Однако, увеличение дозы адреналина за 1 час до декапитации приводило к снижению уровня общего белка в мембранной фракции, извлекаемой из ткани головного мозга без изменения уровня S-100b и N-CAM [299, 354].

Норадреналин оказывает двойственный эффект в зависимости от локализации его действия. Нейрональный норадреналин стимулирует рост и репарацию нервной ткани, оказывает противовоспалительные эффекты. Норадреналин, находящийся в плазме крови, - нейродегенеративный и провоспалительный [214]. В первичной культуре нейронов коры головного мозга крысы при введении норадреналина характерна более высокая степень дендритного наслоения и накопление в зонах дендритной бифуркации хемокина CX3CL1, приводящего к ингибированию активации микроглии [406]. Одним из критических механизмов, лежащих в основе противовоспалительного действия норадреналина, является ингибирование

транслокации NFκB. В тоже время показано, что норадреналин плазмы может стимулировать апоптоз кардиомиоцитов желудочков через активацию β-адренорецепторов [318].

Существует мнение, что норадреналин и адреналин способны уменьшать интенсивность окислительного стресса, который играет значимую роль в патогенезе различных заболеваний, в том числе и ИИ. Этот протекторный эффект достигается посредством удаления свободных радикалов и связывания ионов металлов. При этом сами катехоламины теряют свою функциональную активность вследствие изменения химической структуры [141].

Таким образом, очевидно, что роль апоптоза и обеспечивающих его сигнальных каскадов в развитии ИИ не является исключительно патогенной. Она двойственная. Однако неизвестны условия, при которых преобладает их саногенетический эффект. Исходя из анализа литературы, можно предположить, что закономерности нейрогуморальных механизмов регуляции реализации стресса могут оказывать влияние на эффект активации реализующих апоптоз систем в нейронах. Исследуя эти влияния, представляется возможным построить концептуальную модель взаимодействия исследуемого объекта (нейрона, нейронной сети, пациента после ИИ) с окружающей средой и выявить ограниченное количество ключевых факторов, определяющих исход острого периода ИИ. На основе полученных о таком взаимовлиянии данных может быть разработана универсальная динамическая концепция восстановления головного мозга после ишемического повреждения. Также могут быть сформулированы алгоритмы индивидуализированного формирования окружающей пациента с ИИ среды для целенаправленного модифицирования реализации регулирующих апоптоз механизмов в нейронах головного мозга. Данная тема является практически и методически неразработанной. Она представляет большой интерес для практической и фундаментальной медицины, так как на

ее основе может быть решена социально и экономически значимая проблема восстановления пациента после ИИ в его остром периоде.

Глава 2 Материалы и методы исследования

2.1 Характеристика групп пациентов

2.1.1 Характеристика больных, включенных в клиническое исследование, и группы контроля

В ходе работы обследовано 948 пациентов, поступивших по каналу скорой медицинской помощи в неврологический стационар и отделение реанимации ГБУЗ ГKB № 6 и № 36 в период с 2011 по 2013 гг. Из них критериям включения в исследование удовлетворяли 155 больных (74 мужчины и 81 женщина), среди которых 88 пациентов перенесли ИИ в бассейне правой средней мозговой артерии, 67 – в левой (Таблица 2.1). Пациенты, перенесшие ИИ в бассейне ЛСМА, по клинико-лабораторным показателям, возрастным и гендерным характеристикам достоверно не отличались от пациентов, перенесших ИИ в бассейне ПСМА.

Таблица 2.1 Характеристика пациентов группы исследования

Количество		Всего	Мужчины	Женщины
		155	77	78
Возраст (среднее $\pm$ ст. откл.)		64 $\pm$ 10	57 $\pm$ 5,9	71 $\pm$ 8,5
Тип инсульта*	Атеротромботический	66 (43%)	37 (48%)	29 (37%)
	Кардиоэмболический	29 (19%)	14 (18%)	15 (19%)
	Лакунарный	28 (18%)	16 (21%)	12 (15%)
	Неустановленной этиологии	32 (21%)	10 (13%)	22 (28%)
Локализация (ЛСМА/ПСМА)		67 (43%) / 88 (57%)	38 (49%) / 39 (51%)	29 (37%) / 49 (63%)
Факторы риска**	Курение	71 (46%) / 84 (54%)	7 (9%) / 70 (91%)	64 (82%) / 14 (18%)
	Артериальная гипертензия	14 (9%) / 141 (91%)	9 (12%) / 68 (88%)	5 (6%) / 73 (94%)
	Гиперхолестеринемия	122 (79%) / 33 (21%)	16 (21%) / 61 (79%)	26 (33%) / 52 (67%)
	Сахарный диабет	42 (27%) / 113 (73%)	65 (84%) / 12 (16%)	57 (73%) / 21 (27%)
	ИБС	101 (65%) / 54 (35%)	52 (68%) / 25 (32%)	49 (63%) / 29 (37%)
	Мерцательная аритмия	126 (81%) / 29 (19%)	64 (83%) / 13 (17%)	62 (79%) / 16 (21%)
* по критериям TOAST, ** Фактор риска отсутствует / фактор риска присутствует				

В группу контроля были включены сопоставимые по полу и возрасту добровольцы (Таблица 2.2).

Таблица 2.2 Характеристика пациентов группы контроля

		Всего	Мужчины	Женщины
Количество		28	13	15
Возраст (среднее $\pm$ ст. откл.)		63 $\pm$ 8,4	58 $\pm$ 6,8	68 $\pm$ 7,1
Факторы риска*	Курение	22 (79%) / 6 (21%)	8 (62%) / 5 (38%)	14 (93%) / 1 (7%)
	Артериальная гипертензия	16 (57%) / 12 (43%)	8 (62%) / 5 (38%)	8 (53%) / 7 (47%)
	Гиперхолестеринемия	24 (86%) / 4 (14%)	9 (69%) / 4 (31%)	9 (60%) / 6 (40%)
	Сахарный диабет	18 (64%) / 10 (36%)	12 (92%) / 1 (8%)	12 (80%) / 3 (20%)
	ИБС	25 (89%) / 3 (11%)	12 (92%) / 1 (8%)	13 (87%) / 2 (13%)
	Мерцательная аритмия	28 (100%) / 0 (0%)	13 (100%) / 0 (0%)	15 (100%) / 0 (0%)
* Фактор риска отсутствует / фактор риска присутствует				

Ниже приведены критерии включения в исследование. Основную группу составили пациенты с впервые развившимся ИИ в бассейне левой или правой средней мозговой артерии, установленным клинически, подтвержденным при помощи методов нейровизуализации (магнитно-резонансной томографии – МРТ (T1, T2, DVI режимы), компьютерной томографии – КТ) или патологоанатомически. Обязательным условием включения в исследование было добровольное информированное согласие пациента. В исследование не включали пациентов с геморрагическим инсультом, повторным эпизодом нарушения мозгового кровообращения, наличием черепно-мозговых травм, онкологических и аутоиммунных заболеваний в анамнезе, аллергических, воспалительных реакций, не связанных с ИИ и тяжелой соматической патологии в стадии декомпенсации на момент исследования. Критериями исключения были: отказ пациента от участия в исследовании после подписания информированного согласия, геморрагическая трансформация ИИ, развитие инфекционных осложнений в период пребывания в стационаре, отсутствие верификации диагноза ИИ.

Критериями включения в группу контроля были: возраст, сопоставимый с группой исследования, отсутствие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения и черепно-мозговых травм, онкологических и аутоиммунных заболеваний, аллергических реакций на момент исследования, информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Участие в исследовании не изменяло плана диагностических и лечебных мероприятий: все пациенты получали объем медицинской помощи в соответствии со Стандартом медицинской помощи больным с инсультом (при оказании специализированной помощи). Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации 1975 г. и ее пересмотром 2008 г. и 2013 г. и было одобрено Межвузовским этическим комитетом (Протокол № 08-19 от 26.09.2019 г.). Перед включением в исследование у всех участников было получено добровольное информированное согласие.

В течение первых 7-и суток пребывания в стационаре умерли 19 человек из основной группы исследования. За последующие 14 суток – 11 человек. Основной причиной наступления летального исхода в первую неделю явилось развитие отека головного мозга вследствие его обширного инфаркта, в последующие сутки – тромбоэмболии легочной артерии.

По патогенетическому подтипу (использовали критерии TOAST [135]) больных с ИИ распределили следующим образом: атеротромботический – 66, кардиоэмболический – 29, лакунарный – 28, неизвестного генеза (в т.ч. сочетание нескольких возможных причин) – 32 человека (Таблица 2.1). При этом атеротромботический и кардиоэмболический подтипы инсульта сопровождались наибольшей выраженностью неврологических нарушений и величиной инфаркта по данным МРТ. Наибольшее количество летальных исходов наблюдалось у пациентов с кардиоэмболическим инсультом – 45% от всех поступивших с данным диагнозом, а с атеротромботическим – 12%. Пациенты с неустановленной причиной ИИ умирали в 28% случаев

преимущественно в первую неделю пребывания в стационаре, как и пациенты с кардиоэмболическим ИИ. Среди пациентов с лакунарным подтипом ИИ не было ни одного летального исхода.

В связи с улучшением состояния из стационара досрочно выбыло 14% пациентов преимущественно с лакунарным подтипом ИИ (29% пациентов с лакунарным ИИ от всех вошедших в исследование).

По различным причинам переведены в другие отделения и больницы 27% пациентов, преимущественно с атеротромботическим подтипом ИИ (35% от всех вошедших в исследование пациентов с данным подтипом ИИ).

Основными заболеваниями системы кровообращения у всех пациентов, включенных в основную группу исследования, были артериальная гипертензия и атеросклероз (Таблица 2.3). До развития ИИ для них было характерно: курение, неэффективный контроль уровня артериального давления, неадекватное лечение хронической ишемической болезни сердца и сахарного диабета. Неудовлетворительный контроль модифицируемых факторов сердечно-сосудистого риска был установлен у 148 пациентов из группы исследования, что составило 95% от всех включенных в группу исследования пациентов. В подавляющем большинстве случаев он был связан с низкой комплаентностью пациентов. При этом, наличие ишемической болезни сердца, гиперхолестеринемии, артериальной гипертензии и курения ассоциировалось с атеротромботическим подтипом инсульта, а мерцательная аритмия преобладала у пациентов с его кардиоэмболическим подтипом.

Наличие одного фактора риска выявлено у – 18 (12%) пациентов, двух – у 31 (20%) пациентов, трех – у 55 (35%), четырех – у 37 (24%), более пяти – у 12 (8%), у 2 пациентов (1%) выявляемые факторы риска отсутствовали.

Таблица 2.3 Распространенность факторов сердечно-сосудистого риска у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ

		Тип инсульта*			
		Атеро - тромботический	Кардио - эмболический	Лакунарный	Неустановленной этиологии
Факторы риска**	Курение	26 (39%) / 40 (61%)	14 (48%) / 15 (52%)	12 (43%) / 16 (57%)	19 (59%) / 13 (41%)
	Артериальная гипертензия	3 (5%) / 63 (95%)	3 (10%) / 26 (90%)	4 (14%) / 24 (86%)	4 (13%) / 28 (88%)
	Гипер - холестеринемия	0 (0%) / 66 (100%)	10 (34%) / 19 (66%)	19 (68%) / 9 (32%)	13 (41%) / 19 (59%)
	Сахарный диабет	46 (70%) / 20 (30%)	25 (86%) / 4 (14%)	26 (93%) / 2 (7%)	25 (78%) / 7 (22%)
	ИБС	29 (44%) / 37 (56%)	24 (83%) / 5 (17%)	28 (100%) / 0 (0%)	20 (63%) / 12 (38%)
	Мерцательная аритмия	66 (100%) / 0 (0%)	3 (10%) / 26 (90%)	27 (96%) / 1 (4%)	30 (94%) / 2 (6%)
* по критериям TOAST, ** Фактор риска отсутствует / фактор риска присутствует					

Тяжесть неврологического дефекта пациентов с ИИ при поступлении ($r = 0,504$, $p < 0,01$) и последующий темп восстановления ($r = 0,394$, $p < 0,01$ для временного интервала 1-7-е сутки, $r = 0,624$, $p < 0,01$) коррелировали с суммарным количеством факторов сердечно-сосудистого риска. Также суммарное количество этих факторов коррелировало с возрастом впервые перенесшего ИИ пациента ($r = -0,260$, $p < 0,01$). В группе контроля распространенность факторов риска была меньшей (Таблица 2.2).

В неврологическом статусе у всех пациентов выявлены двигательные нарушения различной степени выраженности (геми- и монопарезы, центральные парезы лицевого и подъязычного нервов), нарушения чувствительности. Также зафиксированы нарушения речи в виде афазии и дизартрии, незначительно выраженные нарушения гнозиса и праксиса. Для объективизации оценки тяжести состояния, выраженности очагового неврологического дефицита и динамики клинических показателей использовалась балльная Шкала оценки тяжести неврологического дефицита после инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS). Средняя степень тяжести инсульта по этой шкале при поступлении в стационар составила $11,7 \pm 4,8$ баллов, у пациентов с

атеротромботическим патогенетическим подтипом ИИ – $13,14 \pm 2,63$ баллов, с кардиоэмболическим - $16,28 \pm 1,98$, с лакунарным - $3,79 \pm 0,96$, с неустановленным - $11,63 \pm 4,00$ баллов. В исходе острого периода ИИ (21 сутки исследования) балл по этой шкале снизился в общей выборке до $4,90 \pm 3,28$, при этом у пациентов с атеротромботическим патогенетическим подтипом ИИ - до $6,11 \pm 2,59$, с кардиоэмболическим - $6,22 \pm 2,05$, с лакунарным - $1,00 \pm 0,76$, с неустановленным - $6,33 \pm 3,91$ баллов. Уровень неврологического дефекта при поступлении пациентов в стационар достоверно коррелировал с таковым в исходе острого периода ИИ ($r = 0,632$, $p < 0,01$) (Таблица 2.4).

Для оценки динамики восстановления неврологического дефицита после ИИ был введен новый динамический показатель - темп восстановления (отношение разности баллов по шкале NIHSS после ИИ ко времени в неделях). За первую неделю пребывания в стационаре темп восстановления составил в среднем $2,91 \pm 2,81$, а за две последующие $1,87 \pm 1,42$ баллов в неделю. Наибольшая динамика восстановления в первую неделю после ИИ была в группе пациентов с его кардиоэмболическим патогенетическим вариантом ($5,57 \pm 3,59$ баллов в неделю), а наименьшая – с лакунарным ($1,52 \pm 0,93$). В последующем периоде (7-21 сутки) наименьший темп восстановления имели также пациенты с лакунарным ИИ ($0,63 \pm 0,35$ баллов в неделю). Пациенты других подгрупп имели более высокий темп восстановления и не имели достоверных отличий между собой, по сравнению с подгруппой пациентов с лакунарным подтипом ИИ. Наиболее выраженная зависимость темпа восстановления от тяжести неврологического дефицита при поступлении в стационар прослеживалась во временном интервале 7-21-е сутки ($r = 0,615$, $p < 0,01$), в интервале 1-7-е сутки она также была достоверна ($r = 0,497$, $p < 0,01$). При этом ни в одном из рассматриваемых временных интервалов не было достоверных корреляционных связей между темпом восстановления и уровнем неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ.

		Пол		Тип инсульта			
		Мужчины	Женщины	Атеро - тромботический	Кардио - эмболический	Лакунарный	Неустановленной этиологии
1 сутки	NIHSS	11,7 ±4,71	11,7 ±4,95	13,1 ±2,63	16,3 ±1,98	3,8 ±0,96	11,6 ±4
	Инд. Бартел	49 ±26,41	47,5 ±28,86	45,6 ±22,46	19 ±20,68	81,1 ±4,78	51,4 ±22,76
	Шк. Рэнкина	3,3 ±1,37	3,2 ±1,42	3,6 ±0,85	4,6 ±0,62	1,1 ±0,26	3,2 ±1,15
7 сутки	NIHSS	8,6 ±4,37	8 ±4,47	10,4 ±2,77	10,1 ±3,96	2 ±0,8	8,4 ±4,38
	Темп*	3,2 ±2,7	2,6 ±2,91	2,9 ±2,31	5,6 ±3,59	1,5 ±0,93	2,4 ±3,49
	Инд. Бартел	67,1 ±14,74	68,6 ±16,18	61,9 ±7,99	61,4 ±10,82	89,8 ±4,02	64,8 ±19,52
	Шк. Рэнкина	2,3 ±1,3	2,1 ±1,39	2,9 ±0,69	2,7 ±1,14	0,2 ±0,44	2,3 ±1,42
21 сутки	NIHSS	5,2 ±3,52	4,6 ±3,05	6,1 ±2,59	6,2 ±2,05	1 ±0,76	6,3 ±3,91
	Темп**	1,9 ±1,46	1,9 ±1,4	2,7 ±1,1	1,6 ±2,01	0,6 ±0,35	1,5 ±1,06
	Инд. Бартел	77,9 ±11,82	79,3 ±11,87	73,2 ±7,36	72,8 ±5,65	95 ±3,78	73,9 ±11,4
	Шк. Рэнкина	1,3 ±1,04	1,2 ±0,94	1,7 ±0,72	1,8 ±0,67	0 ±0	1,6 ±1,01

* Темп изменения выраженности неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS за временной интервал 1-7 сутки

** Темп изменения выраженности неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS за временной интервал 7-21 сутки

Степень функциональных нарушений оценивали по шкалам Бартел и Рэнкина. При поступлении в стационар выраженность функциональных нарушений была выше $48,2 \pm 27,6$ и $3,26 \pm 1,39$ баллов, чем в исходе острого периода $78,61 \pm 11,77$ и $1,26 \pm 0,98$ соответственно. При этом наибольшая тяжесть функциональных нарушений при поступлении была отмечена у пациентов, перенесших инсульт по кардиоэмболическому типу – $18,9 \pm 20,7$ и $4,62 \pm 0,62$, у пациентов с атеротромботическим подтипом ИИ баллы по соответствующим шкалам составили $45,61 \pm 22,46$ и $3,64 \pm 0,85$, с лакунарным – $81,07 \pm 4,78$ и $1,07 \pm 0,26$, с неуточненным – $51,41 \pm 22,76$ и $3,19 \pm 1,15$ баллов. К 21-м суткам степень функциональных нарушений в группах пациентов с кардиоэмболическим ($72,78 \pm 5,65$ и $1,78 \pm 0,67$), атеротромботическим ($73,21 \pm 7,36$ и $1,68 \pm 0,72$) и неуточненным ($73,89 \pm 11,40$ и $1,56 \pm 1,01$) подтипами ИИ достоверно не различалась, при этом пациенты с лакунарным подтипом имели достоверно лучшие показатели функционального состояния ($95,00 \pm 3,78$ и 0 баллов соответственно по шкалам Бартел и Рэнкина) (Таблица 2.4).

2.1.2 Характеристика пациентов, включенных в патоморфологическое исследование, и группы контроля.

Образцы ткани головного мозга были получены при аутопсии 9 человек из группы исследования, которые умерли с диагнозом ИИ в бассейне левой средней мозговой артерии до 7-х суток от момента поступления в стационар. В группу контроля были включены 3 человека, сопоставимых по возрасту с группой исследования, погибших в результате несчастных случаев при отсутствии непосредственного повреждения головного мозга. В анамнезе у них отсутствовали эпизоды нарушений мозгового кровообращения, онкологические и аутоиммунные заболевания, а также аллергические и воспалительные заболевания на момент наступления несчастного случая.

2.2 Материал исследования

Материалом для лабораторного исследования служила периферическая кровь 155 больных ИИ. Взятие проб крови проводилось на 1-е (острейший период ИИ), 7-е и 21-е (завершение острого периода ИИ) сутки после развития ИИ в рамках стандартного обследования пациента. Образцы крови брали натощак в утренние часы при пункции срединной локтевой вены. В группе контроля (28 человек) пробы крови брались однократно с целью проведения научной работы.

Материалом для патоморфологического исследования были образцы ткани головного мозга 9-и пациентов с ИИ в бассейне ЛСМА, вошедших в клиническое исследование и умерших в стационаре до 7-х суток пребывания. Материал получали из банка данных патологоанатомического отделения ГБУЗ ГКБ 36 им. Ф.И. Иноземцева в виде парафиновых блоков. Для формирования группы контроля, состоящей из 3 человек, сопоставимых по возрасту с группой исследования, погибших в результате несчастных случаев, использовали банк данных Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы "Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы". При этом проводили дополнительное иммуногистохимическое исследование предоставленных банком данных образцов, что не предполагало вмешательства в ход работы патологоанатомического отделения и изменения протоколов патолого-анатомического вскрытия.

Образцы тканей головного мозга фиксировали в 10% забуференном формалине.

У пациентов, умерших в результате ИИ исследовали образцы ткани коры головного мозга, которые соответствовали 1-8 полям по Бродману; относительно очага ишемии у каждого исследуемого материал брали из 3-х зон:

- 1) зоны, прилежащей непосредственно к очагу некротической ткани – зона 1;
- 2) зоны, отдаленной от предыдущей на 4 - 7 см (зоны ишемической полутени, или пенумбры) – зона 2 или «зона пенумбры»;
- 3) зоны контралатерального полушария, симметричной очагу ИИ – зона 3.

В группе контроля для каждого случая исследовали один образец ткани коры головного мозга зоны кровоснабжения ЛСМА.

Выполнение научной работы не влияло на факт проведения патологоанатомического исследования, не предполагало вмешательства или изменения протокола патолого-анатомического вскрытия и заключалось в дополнительном гистологическом и иммуногистохимическом исследовании предоставленных банком данных образцов.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Клинические методы

Все пациенты независимо от включения в основную группу исследования получали объем медицинской помощи в соответствии со Стандартом медицинской помощи больным с инсультом (при оказании специализированной помощи) [61].

Всем пациентам проводилось подробное общеклиническое обследование. Особое внимание уделялось динамике изменения выраженности неврологического дефицита, психоэмоционального состояния, уровню психосоциального стресса, наличию факторов сердечно-сосудистого риска, адекватности их профилактики.

Диагноз ИИ был верифицирован у всех пациентов, включенных в исследование при помощи методов нейровизуализации (магнитно-резонансной томографии – МРТ (T1, T2, DVI режимы), компьютерной томографии – КТ) или патологоанатомически.

По патогенетическому подтипу ИИ больных распределили в соответствии с критериями TOAST. Выделяли атеротромботический, кардиоэмболический, лакунарный, неизвестного генеза (в т.ч. сочетание нескольких возможных причин) [135, 199, 267, 412].

Для объективизации оценки состояния пациентов использовали следующие стандартные международные шкалы.

Для объективизации тяжести состояния, выраженности очагового неврологического дефицита и динамики клинических показателей использовалась балльная Шкала оценки тяжести неврологического дефицита после инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS). Она представляет собой инструмент для оценки неврологического дефицита, наиболее часто наблюдаемого при остром инсульте. Неврологом по этой шкале в баллах оценивается уровень сознания, глазодвигательные нарушения, поля зрения, сила мышц лица, рук и ног, сенсорный дефицит, координация, выраженность (при их наличии) афазии, дизартрии, а также синдром отрицания (неглект). Для всех параметров норма соответствует значению 0. Чем выше балл, тем сильнее выражен неврологический дефект (максимально возможное значение по этой шкале - 42 балла) [134, 181, 306, 446, 461, 523].

Для оценки влияния различных факторов на клиническое течение ИИ был введен новый динамический показатель темпа восстановления (отношение разности баллов по любой шкале для оценки неврологического дефекта после острого нарушения мозгового кровообращения ко времени в неделях/днях по формуле: $T = (Z1 - Z2)/n$, где: T – темп восстановления; $(Z1 - Z2)$ – разность баллов по используемой шкале (в этой работе применяли NIHSS) за данный временной промежуток; n – количество недель/дней в данном временном промежутке).

Степень функциональных нарушений оценивали по величине индекса Бартел и по шкале Рэнкина. Индекс Бартел охватывает 10 пунктов, относящихся к сфере самообслуживания и мобильности. Оценка уровня

повседневной активности производится по сумме баллов, определенных у больного по каждому из разделов теста. Доказана высокая надежность этого теста (тест-ретестовая, межрейтинговая), а также его чувствительность: динамика оценки в 4 и более баллов (в случаях, когда максимальным баллом является 20) может считаться существенной, тогда как изменение оценки менее чем на 4 балла возникает чаще в связи с ошибкой измерения. Тест прост, понятен, заполнение опросника требует не более десяти минут, может выполняться путем расспроса пациента или путем наблюдения за ним. Суммарное количество баллов - 100. Показатели от 0 до 20 баллов соответствует полной зависимости пациента от помощи социального работника или родственников, от 21 до 60 баллов - выраженной зависимости, от 61 до 90 баллов - умеренной, от 91 до 99 баллов - легкой зависимости в повседневной жизни. Также в этом исследовании использовали модифицированную шкалу Рэнкина (The Modified Rankin Scale), которая широко используется для оценки степени инвалидизации и функциональной независимости пациента перенесшего инсульт. Шкала позволяет объективизировать динамику симптомов и функциональных нарушений, а так же необходимость в использовании вспомогательных приспособлений. Модифицированная шкала Рэнкина включает пять степеней функциональной недееспособности после инсульта, при этом степень 0 означает отсутствие симптомов, а степень 5 – полную функциональную недееспособность [36, 157, 179, 486, 560].

Для определения уровня психоэмоционального стресса на 7 и 21 сутки пребывания пациентов с ИИ в стационаре и однократно в группе контроля использовали опросник Reeder (Daily Life Stress scale). Шкала психологического стресса Reeder может быть рекомендована в качестве метода экспресс-диагностики уровня стресса. Эта методика использовалась для диагностики уровня стресса в ряде популяций. С помощью нее выявлена связь уровня стресса с наличием стенокардии напряжения, артериальной

гипертензии, в том числе при проведении Фремингемского исследования [143, 186, 303, 427, 492, 502].

Для экспресс-оценки тяжести депрессии и тревоги на 7 и 21 сутки пребывания пациентов с ИИ в стационаре и однократно в группе контроля использовали Госпитальную шкалу тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) [655]. Эта шкала удобна для диагностики депрессии и тревоги у людей, испытывающих значительные проблемы с физическим здоровьем, так как она не фокусируется на соматических (физических) симптомах. Эта шкала была выбрана также в связи с ее высокой дискриминантной валидностью в отношении тревоги и депрессии, удобством и быстротой использования, с учетом отсутствия в задачах исследования детальной квалификации психоэмоционального состояния [328, 385, 405, 517, 518, 566].

С момента поступления в стационар наряду с клиническим неврологическим обследованием у всех пациентов проводили дополнительные исследования: верификацию ишемического очагового поражения головного мозга (МРТ или КТ), при необходимости и отсутствии противопоказаний - исследование спинномозговой жидкости, крови и мочи. При летальном исходе клинический диагноз подтверждался результатами патологоанатомического исследования. В случае невозможности подтверждения диагноза ИИ пациент из исследования исключался.

2.3.2 Лабораторные методы

Определение содержания sFas, sFasL, $\text{TNF}\alpha$, s $\text{TNF}\alpha$ -R1, ИЛ-6, кортизола (К), адреналина (А), норадреналина (НА), адренкортикотропного гормона (АКТГ) в плазме крови пациентов с ИИ на 1-е (острейший период), 7-е и 21-е сутки пребывания в стационаре и однократно в группе контроля производили методом иммуноферментного анализа (Enzyme Linked Immunoassay, ELISA) с помощью стандартных тест систем и многоканального спектрофотометра Multiscan EX (Labsystems, Финляндия).

Стандартный раствор и образцы заливали в лунки на 96-луночных микропланшетах для иммуноферментного анализа, где были фиксированы моноклональные антитела к исследуемым агентам. Присутствующий в растворе агент связывался с моноклональными антителами в лунках. После промывания для удаления не связавшихся субстанций в лунки добавлялись связанные с энзимом поликлональные антитела, специфичные к исследуемому агенту. После повторного промывания и удаления несвязавшихся субстанций в лунки добавлялся раствор субстрата. Развивалась цветная реакция, соответствующая количеству связавшегося на предыдущем этапе агента, интенсивность которой оценивалась с помощью измерения оптической плотности на соответствующей субстрату длине волны многоканальным спектрофотометром. Подсчет результатов проводился по калибровочным кривым, полученным с использованием эталонных сывороток тест-систем.

Иммунологическое исследование включало фенотипирование субпопуляций CD3 и CD3CD95 позитивных лимфоцитов в периферической крови пациентов с ИИ на 1-е, 7-е и 21-е сутки пребывания в стационаре и в группе контроля однократно методом проточной цитофлюорометрии (цитофлюориметр Beckman Coulter Epix XL-MCL (Франция)) с использованием моноклональных антител фирмы Dako CD3/FITC, CD95(Fas)/RPE.

2.3.3 Методы патоморфологического исследования

Образцы тканей головного мозга фиксировали в 10% забуференном формалине. После отмывания фиксатора в проточной воде проводили стандартную гистологическую проводку образцов путем обезвоживания в этиловом спирте. Затем кусочки ткани пропитывали парафином и заливали в парафиновые блоки по стандартной методике [55, 59, 84]. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Leica RM2125RT (Германия) и растягивали на непокрытых предметных стеклах и стеклах с

полилизинным покрытием для иммунологических исследований Vision biosystems plus slides (Великобритания). Затем адгезировали при +56°C в течение 30 мин. Полученные срезы депарафинизировали, окрашивали гематоксилином и эозином, дегидратировали и просветляли в ксилоле (Microm HMS 70). Срезы заключали под покровные стекла в синтетической монтирующей среде (Shandon-Mount).

Срезы покрытые поли-L-лизинном подготавливали к иммуногистохимическому и иммунофлуоресцентному окрашиванию, для этого сначала проводили депарафинизацию, затем проводили демаскировку антигена в Tris-EDTA pH 10.0 буфере в микроволновой печи при мощности 100W в течении 10 минут, охлаждали до комнатной температуры отмывали в PBS.

Выявление исследуемых белков проводили непрямым иммунопероксидазным иммуногистохимическим методом. Для иммунофенотипирования использовали моноклональные антитела к указанным белкам человека (Vision biosystems novocastra, Великобритания), а также пероксидазную детекционную систему Peroxidase Detection System for Novocastra («Leica Microsystems», Германия), включающую вторичные универсальные биотинилированные антитела и стрептавидин-пероксидазный комплекс. Визуализация реакции осуществлялась DAB-хромогеном. Иммуногистохимические исследования проводили согласно протоколам, прилагаемым к используемым антителам. При завершении окрашивания выполняли фоновое контрастирование срезов гематоксилином Майера. Препараты заключали под покровное стекло в 80% глицерине в PBS. Для визуализации клеточных ядер при иммунофлуоресцентном исследовании использовали окраску DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), который проникает через неповрежденные мембраны, избирательно связывается с ядерной ДНК, в результате - при облучении ультрафиолетом ядра испускают синее свечение [115, 656].

Для отрицательного контроля вторичных антител не добавляли первичные антитела. Контроль специфичности реакции проводили с помощью неиммунной сыворотки, а также антител к виментину («Dako», Дания).

Для нервной ткани после фиксации в формалине характерно явление индуцированной аутофлуоресценции. Главными ее источниками служат альдегиды, образующиеся при фиксации в формалине, липофусцин, количество которого в нейронах с возрастом увеличивается, и NADPH, содержащийся в митохондриях. Для подавления аутофлуоресценции использовали метод обработки препарата борогидратом натрия, который, как сильный восстановитель, разрушает ароматические кольца [359].

Выявляли следующие белки:

Нейронспецифическая енолаза (neuron specific enolase, NSE). Это гликолитический фермент семейства енолаз, участвующий в предпоследнем этапе гликолиза – катализирует отщепление воды от 2-фосфоглицериновой кислоты. В результате образуется фосфоенолпируват – соединение, содержащее макроэргическую фосфатную связь. Усиление метаболической активности нейронов сопровождается увеличением количества этого фермента в его цитоплазме. Исходя из этого факта иммуногистохимическую реакцию NSE (2-фосфо-D-глицерат гидролаза) считают также индикатором нейрональной активности [65, 632].

Глиофибрилярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein, GFAP). Он является структурным компонентом цитоскелета зрелых астроцитов, участвует во многих функциях, таких как клеточная структура и движение, клеточная коммуникация астроглии [241, 429].

Белок p53 (protein 53, p53). Является транскрипционным фактором. Гены, транскрипцию которых регулирует белок p53, кодируют белки-компоненты апоптотической программы, а также реализации клеточного цикла. Активация p53 происходит в ответ на многочисленные стрессовые стимулы, к которым в том числе относится и гипоксия. p53 связан с

инициацией каспазnezависимого и внутреннего каспаззависимого пути апоптоза [32, 642]. Во многих работах p53 позиционируется как один из ключевых факторов реализации апоптотической программы нейронов после ИИ [31, 589]. Показано, что каротидная ишемия-реперфузия коры теменной доли крысы увеличивает в нейроцитах концентрацию белка p53 в раннем ишемически-реперфузионном периоде [32], а также повышение концентрации p53 в сыворотке крови пациентов в остром периоде ИИ [31].

Каспаза 3 (caspase 3, casp3). Этот фермент считается универсальным индикатором апоптотической активности клетки, активация каспазы 3 играет значимую роль в апоптозе нейронов и считается терминальным событием, предшествующим гибели клетки [462].

Каспаза 8 (caspase 8, casp8). Считается маркером более ранних этапов апоптоза и связана с внешним путем активации каспазы 3, который инициируется посредством связывания лигандов смерти со своими рецепторами на поверхности клетки [539]. Принято, что одновременная детекция активности каспазы 3 и каспазы 8 может дать информацию о преимущественной направленности внутриклеточных сигнальных путей на реализацию апоптоза или другого сценария клеточного ответа, на преобладающий путь активации апоптоза [376, 545, 555, 598].

6-ой член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6, TNFRSF6 или Fas; синонимы: apoptosis antigen 1, APO-1, cluster of differentiation 95, CD95). Относится к семейству рецепторов смерти TNF, после взаимодействия со своим лигандом (FasL) способен запускать в клетке целый спектр биологических эффектов: апоптоз, воспаление, пролиферацию, дифференцировку [250, 495, 567, 659].

Лиганд 6 члена суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6 ligand, TNFRSF6L или FasL, cluster of differentiation 178, CD178) является лигандом вышеприведенного рецептора [373].

Fas-апоптоз ингибиторная молекула 2 (Fas apoptotic inhibitory molecule 2, FAIM2). Является вторым членом семейства белков, содержащих мотив трансмембранного ингибитора BAX-1 (Transmembrane BAX inhibitor motif-containing protein 2, TMBIM2), другое название семейства - Life Guard (Lfg, от англ. Life Guard - спасатели) и, соответственно, другое название молекулы - Lfg2. Конститутивная экспрессия FAIM2 в нейронах может предотвращать апоптотическую гибель, вызванную связыванием лиганда и рецептора Fas [163].

Белок c-fos. Это продукт экспрессии гена *c-fos*, транскрипционный фактор, обеспечивающий транскрипцию поздних генов, ответственных за пролиферацию, выживание и подвижность клеток [442], может быть использован в качестве маркера активации нейронов [270]. Существует концепция о ключевой роли *c-fos* в обучении и памяти [332].

Регулируемая внеклеточными сигналами киназа 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2). Активация ERK1/2 преимущественно связана с адаптивными перестройками нейронов при воздействии повреждающих стимулов, а также может индуцировать транскрипцию ранних генов, например *c-fos* [345, 442, 472, 510].

Белок Notch1 - трансмембранный белок, который функционирует как активированный лигандом транскрипционный фактор и играет важную роль в дифференцировке, пролиферации и апоптозе клеток. Относится к высоко консервативным трансмембранным белкам, которые экспрессируются в развивающейся нервной системе млекопитающих и в мозге взрослого человека [275, 559], обеспечивает дифференцировку нейронов из прогениторных клеток [180, 238, 491], адаптивные перестройки нейронов [404, 524], обеспечивая реализацию нейрональной пластичности и латерального ингибирования [170, 211, 273, 416, 524, 533].

Для сравнения и уточнения локализации иммунопозитивных нейронов, идентификации слоев коры, проведения их морфометрии, определения

плотности расположения клеточных элементов дополнительно использовали методы окрашивания гематоксилином и эозином и по Ниссля [34].

Полученные гистологические и иммуногистохимические препараты изучали с помощью светового микроскопа Axio Scope A1 («Carl Zeiss», Германия) с использованием цифровой фотокамеры Canon PowerShot, программного обеспечения AxioVision LE («Carl Zeiss», Германия), а также флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse TE-2000. Визуальную оценку и морфометрический анализ коры головного мозга проводили на полученных с использованием вышеуказанного оборудования цифровых фотографиях (объектив х 40, апертура 0,9) размером изображения 1300x1030 пикселей, реальным размером захваченной области 220x174 мкм (38 280 мкм²). Исследовали семь случайных полей зрения каждого из трех срезов каждой из трех зон у каждого из девяти человек группы пациентов с ИИ (n=189 полей зрения для каждой из трех зон). Всего обработано n=567 полей зрения для группы пациентов после ИИ. В группе контроля у каждого из трех человек было обработано по семь полей зрения каждого из трех срезов (n=63) [63, 65].

Морфометрию ткани мозга проводили с использованием световой микроскопии срезов, окрашенных гематоксилином-эозином, по Ниссля и после проведения иммуногистохимической реакции для выявления NSE. Подсчитывали нейроны с сохранной морфологической структурой и нейроны с нарушенной морфологической структурой [8, 16, 46, 67]. При этом определяли:

- абсолютное количество нейронов на единицу площади среза 1 мкм² (общая численная плотность нейронов);
- общую плотность нейронов с нарушенной морфологической структурой на единицу площади 1 мкм²;
- процентное содержание нейронов с нарушенной морфологической структурой от общего числа нейронов;

- абсолютное количество клеточных элементов на единицу площади среза 1 мкм^2 (общую численную плотность клеточных элементов);

- нейронастроглиальный индекс путем соотнесения общей численной плотности нейронов и общей численной плотности астроцитов (в пересчете на 1 мкм^2 поля зрения). Для подсчета клеток различного типа при морфометрическом анализе использовали пакетную обработку фотографий срезов в приложении ImageJ. [64, 256].

- процентное содержание нейронов с положительной иммуногистохимической реакцией для выявления вышеуказанных белков от всех нейронов в поле зрения.

Также при визуальной оценке производили выявление типичных изменений в коре головного мозга после ИИ (варианты коэкспрессии вышеуказанных белков с использованием флуоресцентной микроскопии, структурные особенности нейронов, закономерности расположения клеток с использованием рутинных морфологических методик).

2.4 Методы статистической обработки.

Расчет размера выборки проводился на этапе планирования исследования, уровень значимости для отклонения нулевой гипотезы был задан 0,05, мощность 80%. Объемы выборок для каждой части исследования описаны в предыдущих подразделах.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, США).

После проверки выборок на нормальность распределения использовали параметрические или непараметрические статистические методы. Для проверки гипотезы о законе распределения данных применяли критерий Пирсона, критерий χ^2 и критерий Колмогорова-Смирнова. При подтверждении нормальности распределения данных применяли параметрические методы статистической обработки, в обратном случае – непараметрические.

При подтверждении нормальности распределения количественные данные представляли в виде среднего (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD). Для сравнения средних использовали параметрические методы анализа. Оценка уровня значимости различия двух выборок (p -уровень) проводилась при помощи t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Применяли методы дисперсионного, корреляционного, кластерного анализа.

При неподтверждении нормальности распределения у выборки указывали медиану, в скобках приводили нижний квартиль и верхний квартиль. Для работы с такими выборками использовали непараметрические методы. Сравнительный анализ двух независимых групп по количественному признаку выполнялся с помощью U -критерия Манна-Уитни, трех выборок – при помощи критерия Краскала-Уоллиса. Связанные выборки оценивались по критерию Уилкоксона. Корреляционный анализ изученных показателей проводился с использованием непараметрического метода Спирмена.

При графическом представлении результатов использовали диаграммы рассеяния и диаграммы размаха (Рисунок 2.1), на которых достоверность различий с контролем обозначалась следующим образом: * - p -уровень отличия данных от контроля (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$), # - p -уровень отличия данных от данных на следующие сутки исследования (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$), ^ - p -уровень отличия данных между подгруппами (^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,01$).



Рисунок 2.1 Графическое представление результатов для диаграммы рассеяния (расшифровка)

**Глава 3 Закономерности динамики концентрации растворимых
регулирующих апоптоз молекул систем Fas и TNF α и мембранных
рецепторов Fas (CD95) на CD3-позитивных лимфоцитах
периферической крови пациентов в остром периоде ишемического
инсульта.**

3.1 Динамика состояния регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы Fas

Для выявления закономерностей динамики интенсивности эффектов агрессии растворимых апоптозиндуцирующих молекул системы Fas исследовали их концентрации в периферической крови пациентов на 1, 7 и 21 сутки после развития ИИ и в группе контроля однократно. Концентрация sFasL в группе контроля составила $208,29 \pm 67,05$ пг/мл, что достоверно отличалось от группы исследования на 1 сутки ($342,37 \pm 190,88$ пг/мл, $p < 0,01$), 7 сутки ($478,94 \pm 248,51$ пг/мл, $p < 0,01$) и 21 сутки ($570,16 \pm 245,26$ пг/мл, $p < 0,01$) (Рисунок 3.1).

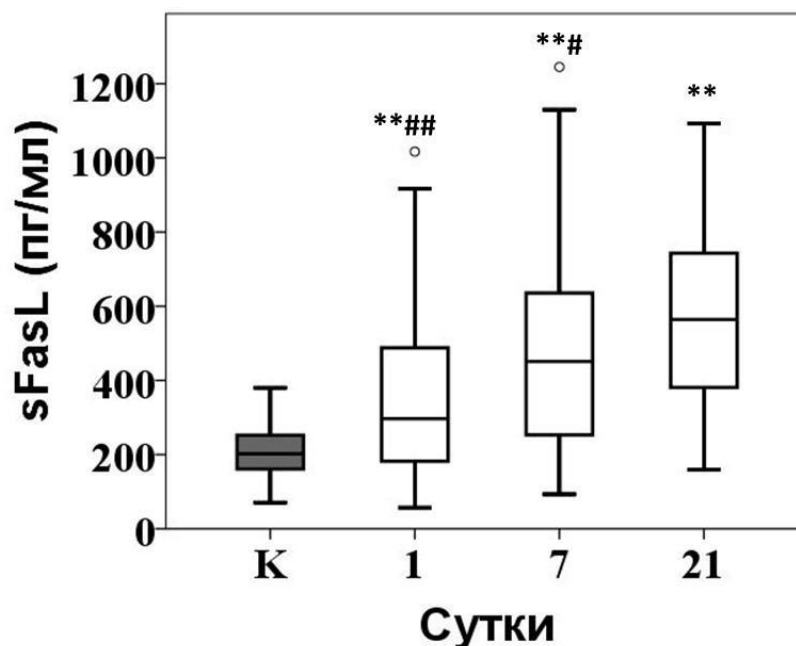


Рисунок 3.1 Концентрация sFasL в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл) * - p-уровень отличия данных от контроля (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$), # - p-уровень отличия данных от данных на следующие сутки исследования (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$)

Концентрация sFasL в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл)

Концентрация sFas в группе контроля была равна $92,27 \pm 26,62$ пг/мл. В группе исследования по сравнению с контролем достоверные отличия выявлены на 7 сутки ($167,25 \pm 71,85$ пг/мл, $p < 0,01$) и 21 сутки ($198,26 \pm 74,22$ пг/мл, $p < 0,01$), на 1 ($113,84 \pm 56,37$ пг/мл, $p < 0,01$) достоверных отличий не наблюдалось (Рисунок 3.2).

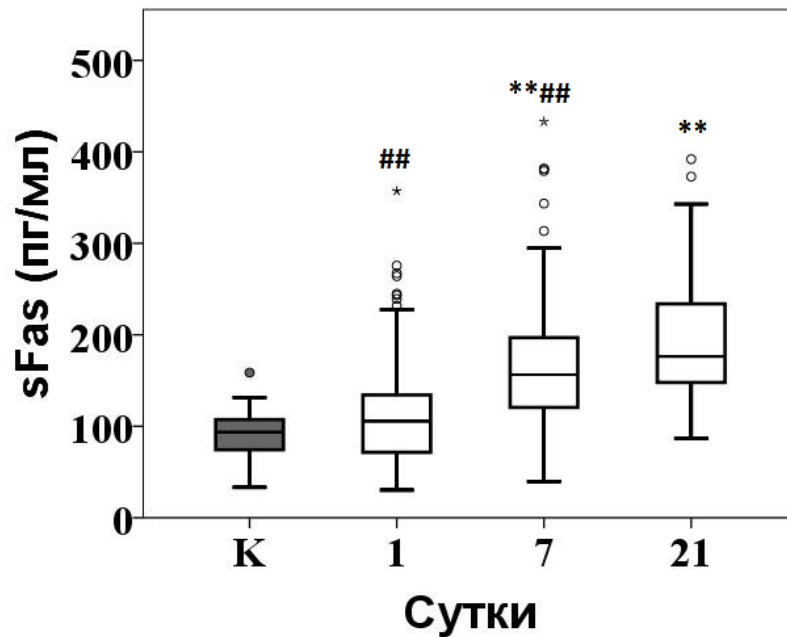


Рисунок 3.2 Концентрация sFas в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), прочие обозначения как на рисунке 3.1

Отношение sFasL к sFas в группе контроля было равным $2,26 \pm 0,33$, что статистически достоверно отличалось от группы исследования на всех сроках исследования: на 1 сутки ($2,98 \pm 0,97$, $p < 0,01$), на 7 сутки ($2,83 \pm 0,91$, $p < 0,05$) и на 21 сутки ($2,91 \pm 0,95$, $p < 0,01$) (Рисунок 3.3).

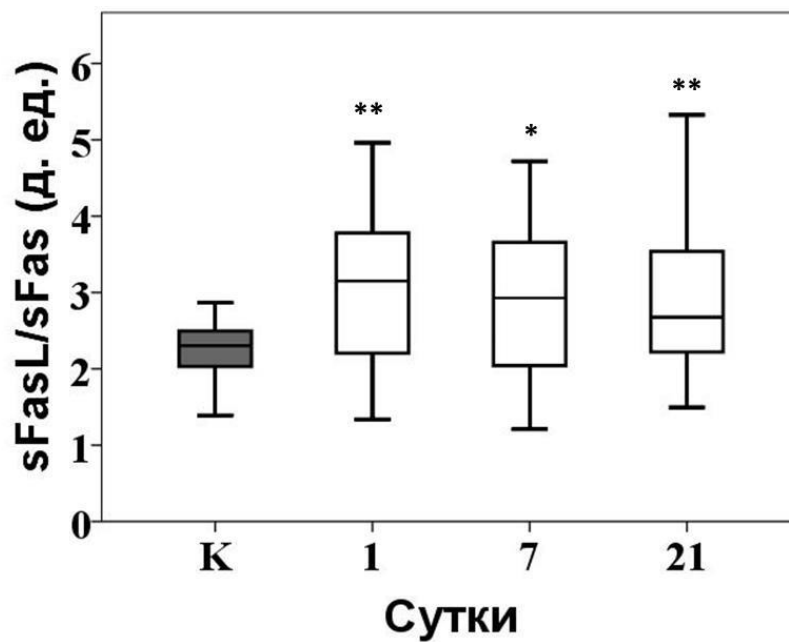


Рисунок 3.3 Отношение sFasL к sFas в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл) прочие обозначения как на рисунке 3.1

Содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов в периферической крови, выявленное методом проточной цитометрии, в группе контроля составило $0,15 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$ ($12,74 \pm 0,81\%$ от абсолютного количества лимфоцитов). В группе исследования отмечалось достоверное увеличение по сравнению с группой контроля как абсолютного, так и процентного содержания CD3CD95 позитивных лимфоцитов во все сроки исследования. Так на 1 сутки оно составило $0,52 \pm 0,21 \cdot 10^9/\text{л}$ ($30,12 \pm 7,66\%$), на 7 – $0,39 \pm 0,19 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,29 \pm 7,65\%$), на 21 – $0,37 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,18 \pm 10,03\%$) (Рисунок 3.4, Рисунок 3.5).

Учитывая способность трансмембранных рецепторов Fas на поверхности лимфоцитов (в работе исследовали CD3CD95 позитивную фракцию лимфоцитов) связывать растворимый лиганд Fas и таким образом оказывать влияние на эффективность атаки апоптозиндуцирующими молекулами трансмембранных рецепторов Fas на поверхности других клеток, включая нейроны головного мозга, был введен показатель «sFasL-

эффективность», который вычисляли по формуле: отношение концентраций sFasL и sFas к абсолютному содержанию CD3CD95 позитивных лимфоцитов.

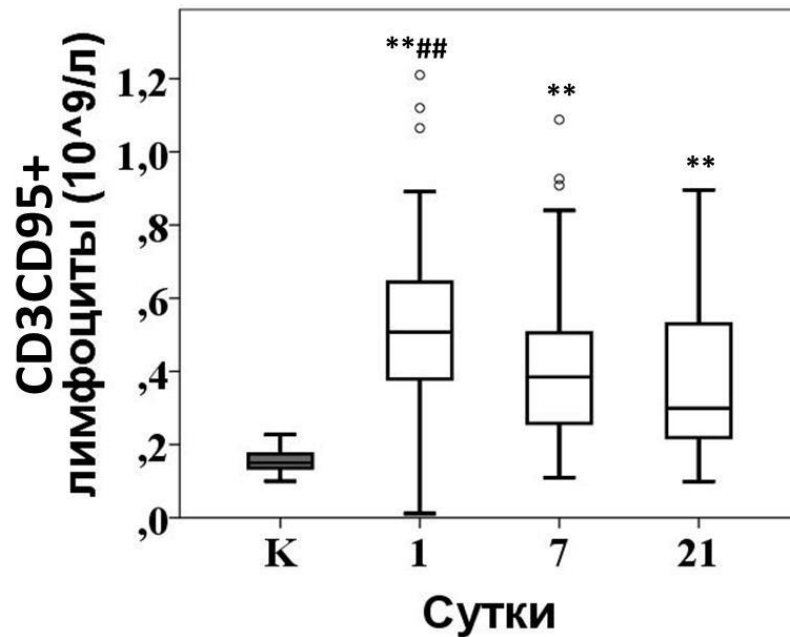


Рисунок 3.4 Абсолютное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 и в группе контроля (К) (*10⁹/л), прочие обозначения как на рисунке 3.1

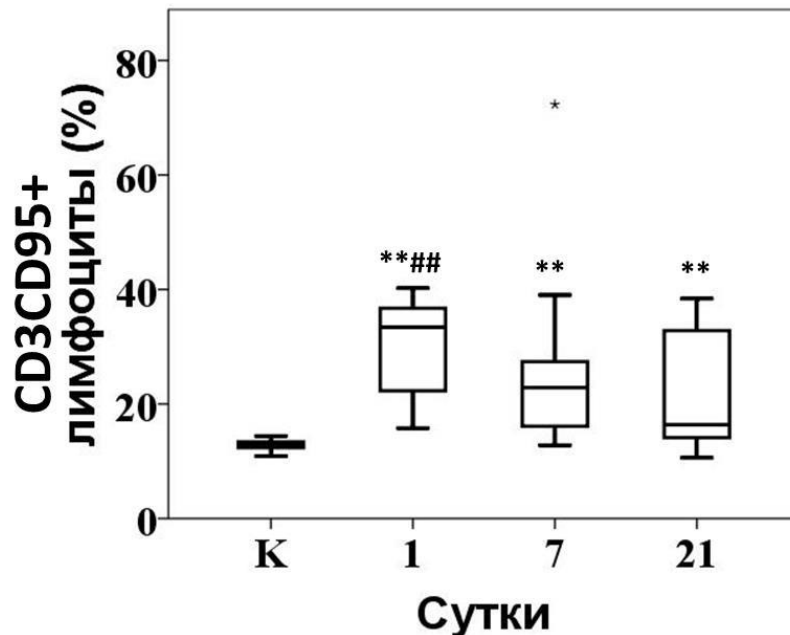


Рисунок 3.5 Относительное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 и в группе контроля (К) (%), прочие обозначения как на рисунке 3.1

В группе контроля этот показатель имел максимальное значение равное $15,26 \pm 4,08$. Пиково низкий показатель sFasL-эффективности отмечался в

первые сутки после развития ИИ ($7,72 \pm 13,26$), затем она достоверно увеличивалась ($p < 0,01$) и к концу первой недели была равна $9,89 \pm 7,41$, а к концу острого периода ИИ достоверной динамики отмечено не было ($9,36 \pm 4,97$) (Рисунок 3.6).

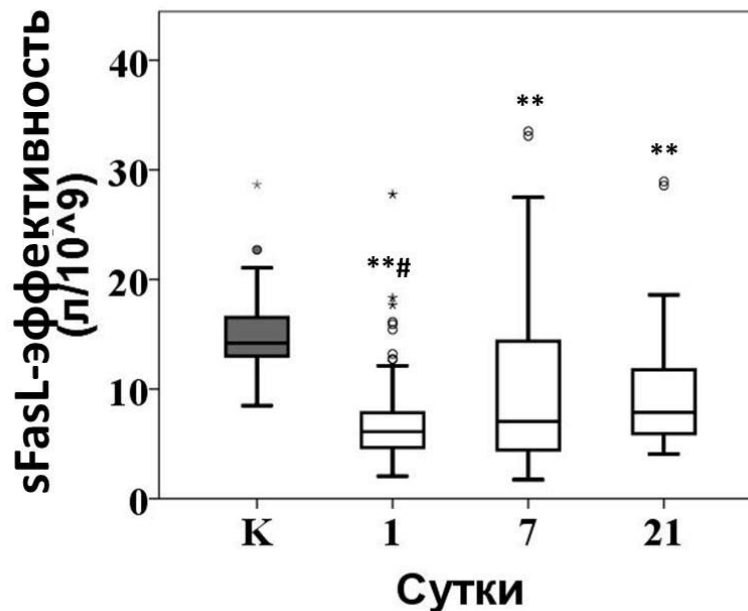


Рисунок 3.6 Выраженность sFasL-эффективности периферической крови у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ и в группе контроля (К), прочие обозначения как на рисунке 3.1

По патогенетическому подтипу ИИ наибольшего значения концентрация sFasL к концу 1-х суток исследования достигала у пациентов с кардиоэмболическим ИИ и была равна $430,59 \pm 161,49$ пг/мл, на 7 сутки – с неизвестным генезом (в том числе сочетание нескольких возможных причин) $547,62 \pm 269,84$ пг/мл, на 21 – с кардиоэмболическим и составляла $734,22 \pm 228,36$ пг/мл, во все сроки исследования отличия от контроля были достоверными ($p < 0,01$) (Рисунок 3.7).

Концентрация sFas достигала максимальных значений и достоверно была выше, чем в группе контроля, ($p < 0,01$) у пациентов с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ на 1 и 21 сутки исследования и была равна, соответственно $133,34 \pm 62,16$ и $219,24 \pm 53,00$ пг/мл, на 7 – у пациентов с атеротромботическим, когда она достигала $184,46 \pm 72,57$ пг/мл (Рисунок 3.8).

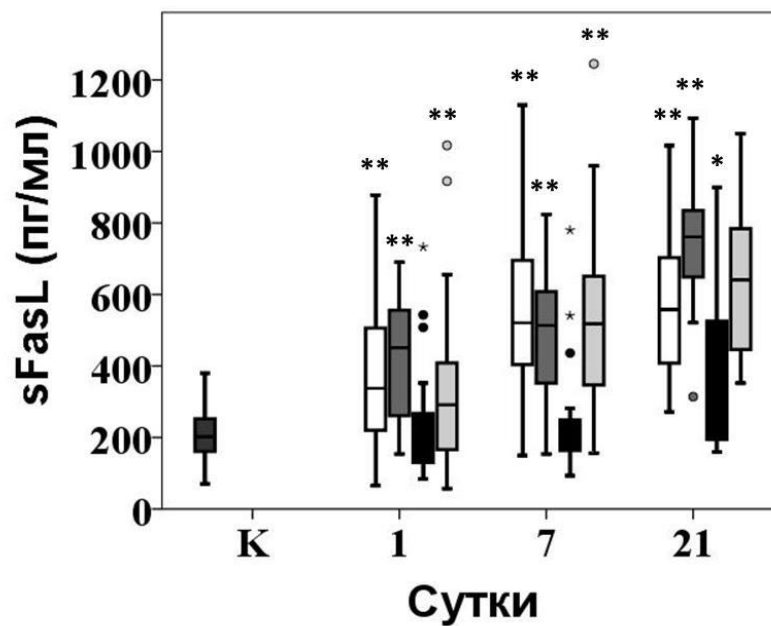


Рисунок 3.7 Концентрация sFasL в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21-е сутки исследования и в группе контроля (К) (пг/мл) атеротромботический - белый, кардиоэмболический – темно-серый, лакунарный – черный, неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) – светло-серый

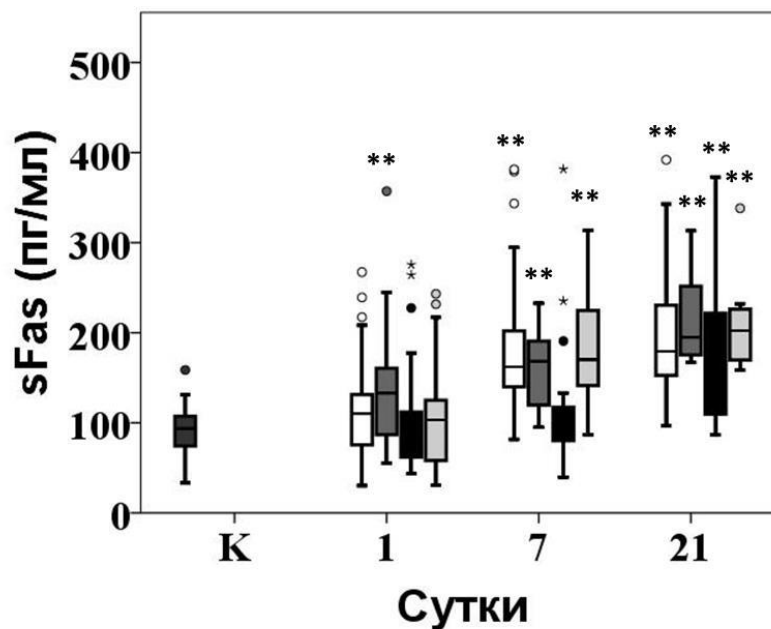


Рисунок 3.8 Концентрация sFas в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21-е сутки исследования и в группе контроля (К) (пг/мл), прочие обозначения как на рисунке 3.7.

Наибольшее значение соотношения sFasL к sFas на 1 и 21 сутки исследования, соответственно $3,39 \pm 0,77$ и $3,45 \pm 1,11$ было у пациентов с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ, на 7 сутки - у пациентов с атеротромботическим и кардиоэмболическим подтипами ИИ – $3,03 \pm 1,03$ и $3,03 \pm 0,67$, соответственно (Рисунок 3.9).

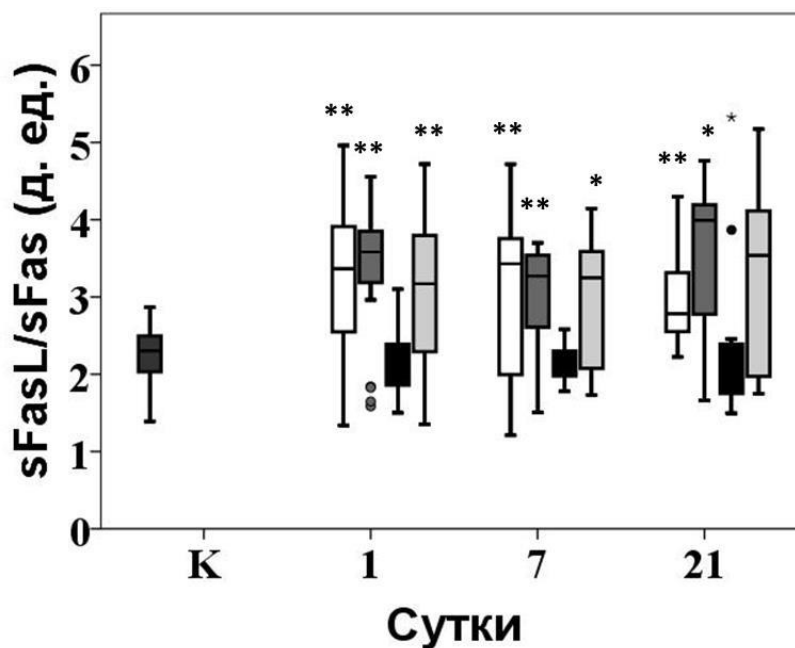


Рисунок 3.9 Отношение sFasL к sFas в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) атеротромботический - белый, кардиоэмболический – темно-серый, лакунарный – черный, неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) – светло-серый

У пациентов с лакунарным патогенетическим подтипом ИИ во все сроки исследования выявлены наименьшие значения по всем показателям. Так, концентрация sFasL достигала $230,27 \pm 155,83$ пг/мл, $241,19 \pm 160,35$ пг/мл, соответственно на 1 и 7 сутки при этом не отличаясь достоверно от группы контроля. На 21 сутки она была равна $386,53 \pm 240,73$ пг/мл и отличия от контроля были достоверными ($p < 0,01$). Концентрация sFas у этой группы пациентов на 1 сутки равнялась $104,28 \pm 64,00$ пг/мл, на 7 - $113,43 \pm 75,56$ пг/мл, на 21 - $168,15 \pm 90,77$ и достоверно отличалась от группы

контроля лишь на 21 сутки. Отношение sFasL к sFas при этом патогенетическом подтипе также было наименьшим во все сроки исследования, не отличалось достоверно от группы контроля и составляло на 1 сутки – $2,04 \pm 0,72$, на 7 сутки – $2,13 \pm 0,20$, на 21 – $2,32 \pm 1,01$.

Для всех патогенетических подтипов ИИ закономерным было увеличение содержания sFasL и sFas в периферической крови от 1 к 21 суткам исследования. Для динамики отношения sFasL к sFas у пациентов с кардиоэмболическим подтипом и ИИ неизвестного генеза на фоне достоверно повышенного значения по сравнению с контрольным во все сроки исследования закономерным было достоверное ($p < 0,05$) снижение показателя на 7 сутки. При атеротромботическом патогенетическом подтипе наблюдалось снижение значения отношения к исходу острого периода ИИ (на 1, 7, 21 сутки достоверно выше контроля), а при лакунарном - отношение sFasL к sFas недостоверно нарастало от 1 к 21 суткам, не превышая ни на одном из сроков исследования контрольного значения (Рисунок 3.7 - Рисунок 3.9).

При сравнении пациентов с различными патогенетическими подтипами ИИ наибольшее количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов в единице объема периферической крови выявлено при кардиоэмболическом варианте ИИ и оно составило, соответственно на 1, 7 и 21 сутки – $0,60 \pm 0,15 \cdot 10^9/\text{л}$ ($35,33 \pm 4,51\%$), $0,43 \pm 0,17 \cdot 10^9/\text{л}$ ($20,18 \pm 6,07\%$), $0,45 \pm 0,15 \cdot 10^9/\text{л}$ ($28,19 \pm 10,37\%$). Наименьшие, но достоверно превышающие контрольные показатели ($p < 0,01$), значения на 1 и 21 сутки (соответственно $0,31 \pm 0,15 \cdot 10^9/\text{л}$ ($19,74 \pm 2,17\%$) и $0,27 \pm 0,07 \cdot 10^9/\text{л}$ ($14,85 \pm 1,90\%$) показатель имел у пациентов с лакунарным ИИ, а на 7 сутки – при неустановленном подтипе ($0,37 \pm 0,23 \cdot 10^9/\text{л}$ ($21,35 \pm 6,30\%$)) (Рисунок 3.10, Рисунок 3.11). Показатель sFasL-эффективности на 1 сутки исследования имел самое высокое значение и был максимально приближен к контрольному при лакунарном патогенетическом подтипе ИИ ($14,71 \pm 31,06$), однако это отличие было достоверным ($p < 0,01$).

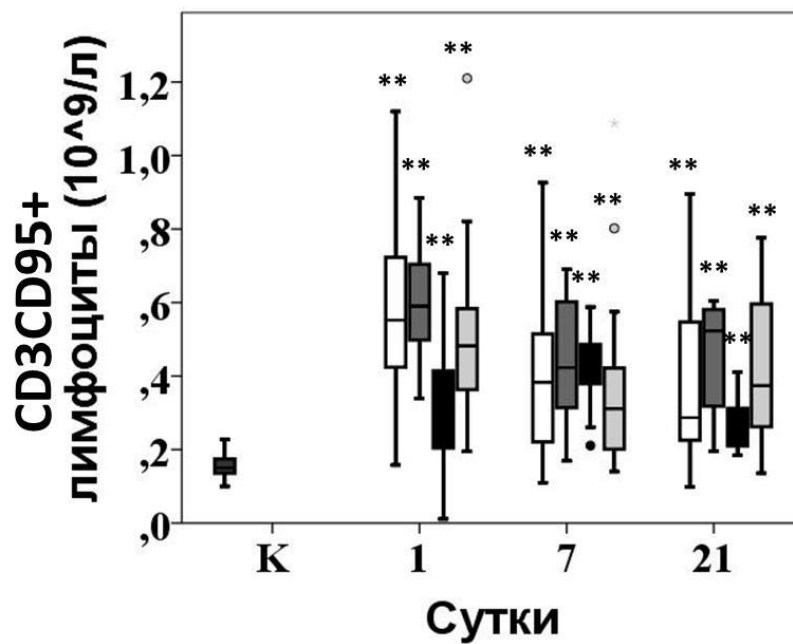


Рисунок 3.10 Абсолютное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) (*10⁹/л) атеротромботический - белый, кардиоэмболический – темно-серый, лакунарный – черный, неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) – светло-серый

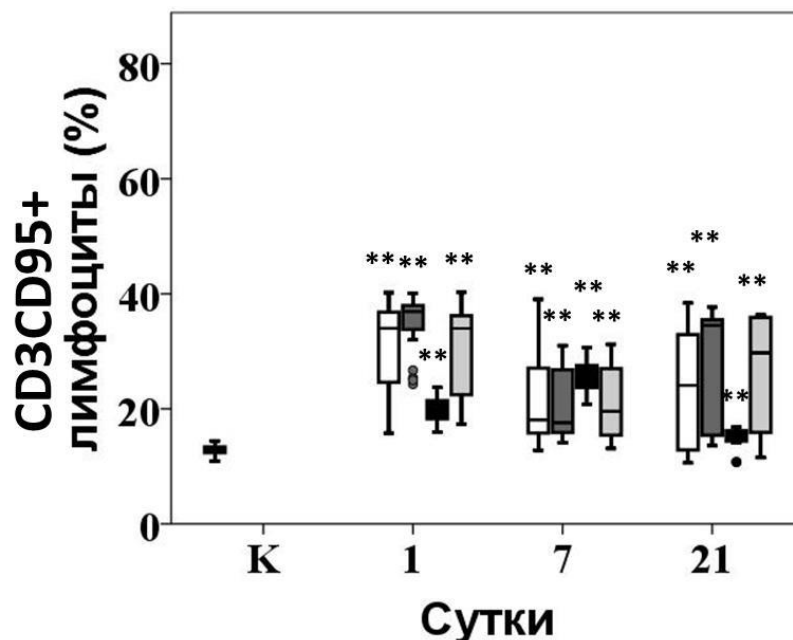


Рисунок 3.11 Относительное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) (%), прочие обозначения как на рисунке 3.10

На 7 сутки у пациентов с этим патогенетическим вариантом ИИ было наименьшее значение показателя sFasL-агрессия ($5,45 \pm 1,57$), наибольшее – при атеротромботическом ($11,63 \pm 8,78$) и неустановленном ($11,05 \pm 7,13$) подтипах ИИ. К концу его острого периода наибольшие значения sFasL-эффективности были установлены у пациентов с атеротромботическим ($9,78 \pm 5,04$) и лакунарным ($9,64 \pm 6,41$) подтипами ИИ. При этом, у пациентов с лакунарным ИИ отмечалась наиболее значимо выраженная динамика показателя ($p < 0,01$ для всех временных интервалов) с пиково низким значением на 7 сутки и дальнейшим достоверным нарастанием к концу острого периода. При атеротромботическом ИИ достоверным было лишь увеличение показателя sFasL-эффективности к концу первой недели после начала ИИ ($p < 0,01$). Затем следовало недостоверное снижение показателя. При других патогенетических вариантах ИИ достоверной динамики не выявлено.

У пациентов с лево- и правосторонней локализацией очага, а также у мужчин и женщин достоверных различий в содержании sFasL, sFas, отношении sFasL к sFas, CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови во все сроки исследования не было (Таблица 3.1).

На концентрацию sFasL в крови пациентов после ИИ в разные его сроки достоверно оказывало влияние наличие следующих факторов сердечно-сосудистого риска: - гиперхолестеринемия на 1 и 7 сутки ($p < 0,05$), - ИБС на 7 сутки ($p < 0,01$), - мерцательная аритмия на 1 ($p < 0,01$) и 21 ($p < 0,05$) сутки исследования. На концентрацию sFas: - гиперхолестеринемия и - ИБС на 7 сутки ($p < 0,05$), - мерцательная аритмия на 1 сутки ($p < 0,05$). На соотношение концентраций sFasL и sFas: - гиперхолестеринемия на 1 сутки ($p < 0,05$), - наличие ИБС на 1 ($p < 0,01$) и 7 ($p < 0,05$), - мерцательная аритмия на 1 ($p < 0,05$). На абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов в периферической крови оказывали влияние: - гиперхолестеринемия на 1 сутки ($p < 0,01$), - сахарный диабет на 1 ($p < 0,01$) и 21 ($p < 0,05$), - наличие ИБС и -

мерцательной аритмии на 1 сутки ($p < 0,01$). На показатель sFasL-эффективности - наличие ИБС на 7 сутки исследования ($p < 0,05$).

Для клинической интерпретации приведенных выше результатов работы и возможности использования их в клинической практике было проведено разделение пациентов группы исследования на подгруппы с учетом неврологического дефекта, полноты последующего функционального восстановления и параметров, учитывающих особенности патогенетических и саногенетических процессов, связанных с механизмами реализации апоптоза. Для решения этой задачи потребовалось выявить адекватные оценочные параметры. Балл по шкале NIHSS при исследуемой в работе локализации ИИ (бассейны ЛСМА и ПСМА) коррелировал со значениями шкал функциональной активности Бартелл и Рэнкина ($r = p < 0,01$). Поэтому для условного распределения пациентов, перенесших ИИ, на группы с учетом функционального восстановления и апоптозиндуцирующих характеристик периферической крови был проведен ретроспективный анализ зависимости тяжести исхода (балл по NIHSS на 21-е сутки) от концентраций sFasL, sFas и их соотношения на 1-е сутки ИИ. По его результатам отмечалась выраженная кластеризация по показателям отношений sFasL/sFas (Рисунок 3.12). На графике (Рисунок 3.12 А) зависимости sFasL/sFas на 1 сутки от NIHSS на 21-е сутки показано, что sFasL/sFas принимает значения $2,22 \pm 0,60$ при относительно низком уровне неврологического дефицита на 21-е сутки ($\text{NIHSS} \leq 5$), что не отличается достоверно от значений для контрольной группы $2,26 \pm 0,33$. В отличие от этого, для пациентов с относительно неблагоприятным исходом ($\text{NIHSS} > 5$) отношение sFasL/sFas принимает значения $3,71 \pm 0,60$ при достоверном отличии ($p < 0,01$) от значений для контрольной группы и значений для благоприятного исхода ($p < 0,01$). Граничное значение уровня неврологического дефицита ($\text{NIHSS} = 5$) получено в результате проведения кластерного анализа и оценки динамики р-показателя отличий математических ожиданий концентраций sFasL и sFas, а также их соотношения между подгруппами пациентов с благоприятным и

неблагоприятным исходом острого периода ИИ при использовании разных значений уровня неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS как граничного при распределении пациентов на вышеуказанные подгруппы (Рисунок 3.13). Учитывая, что функциональные ограничения пациента при таком уровне неврологического дефицита (≤ 5 баллов по NIHSS) слабо выражены или полностью отсутствуют, то на основании выше приведенных результатов было принято решение о выделении в группе исследования двух подгрупп пациентов. Подгруппе пациентов, чьи данные распределились в первый кластер (NIHSS на 21 сутки ≤ 5), присвоили название – «подгруппа с благоприятным исходом», второй (NIHSS на 21 сутки > 5) - «подгруппа с неблагоприятным исходом».

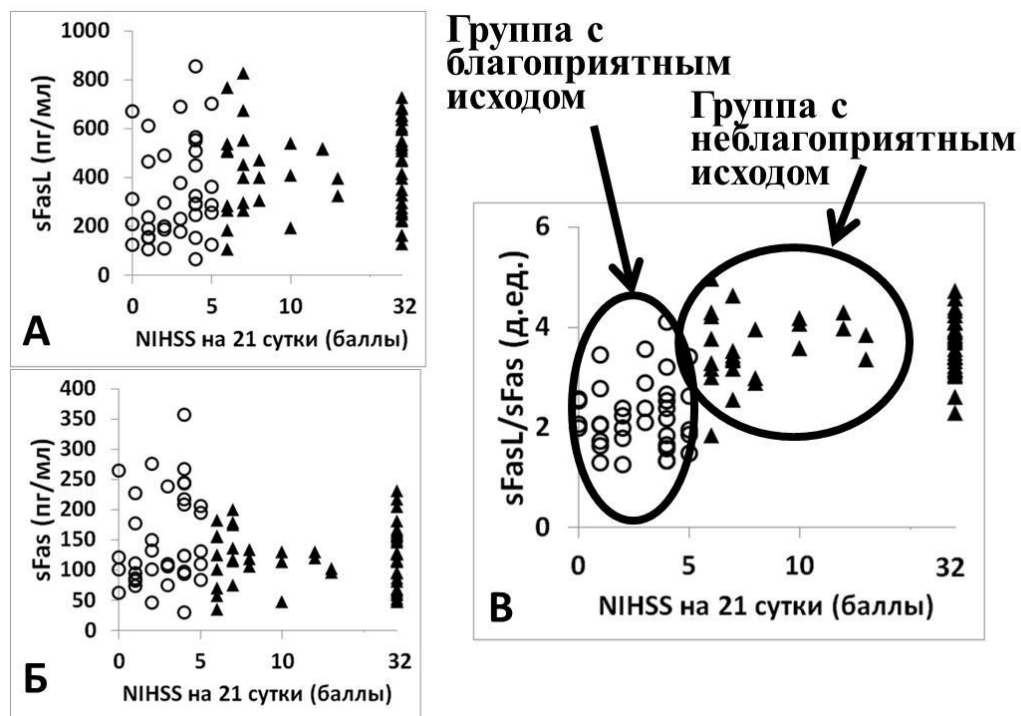


Рисунок 3.12 Ретроспективный анализ зависимости тяжести исхода ИИ (NIHSS на 21 сутки) от концентраций sFasL (А), sFas (Б) и их отношения (В) на 1 сутки (белые кружочки – пациенты с благоприятным исходом, черные треугольники – с неблагоприятным)

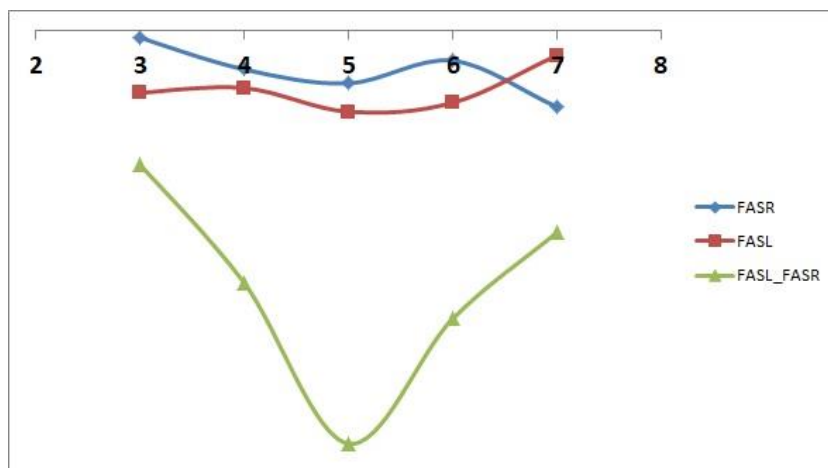


Рисунок 3.13 Динамика р-показателя отличий математических ожиданий концентраций sFasL и sFas, а также их соотношения между подгруппами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ при использовании разных значений уровня неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS как граничного при распределении пациентов на вышеуказанные подгруппы

В подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ концентрация sFasL достоверно отличалась от группы контроля во все сроки исследования ($p < 0,01$), на 1 сутки она была равна $317,06 \pm 153,34$ пг/мл, на 7 сутки – $363,11 \pm 196,05$ пг/мл, на 21 – $482,14 \pm 231,41$ пг/мл. В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом концентрация sFasL также достоверно отличалась от группы контроля во все сроки исследования и составляла $459,44 \pm 206,95$ пг/мл, $656,75 \pm 229,66$ пг/мл, $696,92 \pm 209,60$ пг/мл на 1, 7 и 21 сутки, соответственно. Различия между значениями концентрации sFasL в подгруппах были достоверными во все сроки исследования ($p < 0,01$). Динамика концентрации sFasL в целом повторяла тренд общей выборки, однако в подгруппе благоприятного исхода достоверный рост отмечался во временном интервале с 7 по 21 сутки ($p < 0,05$), а в подгруппе неблагоприятного исхода в первую неделю после развития ИИ ($p < 0,01$) (Рисунок 3.14).

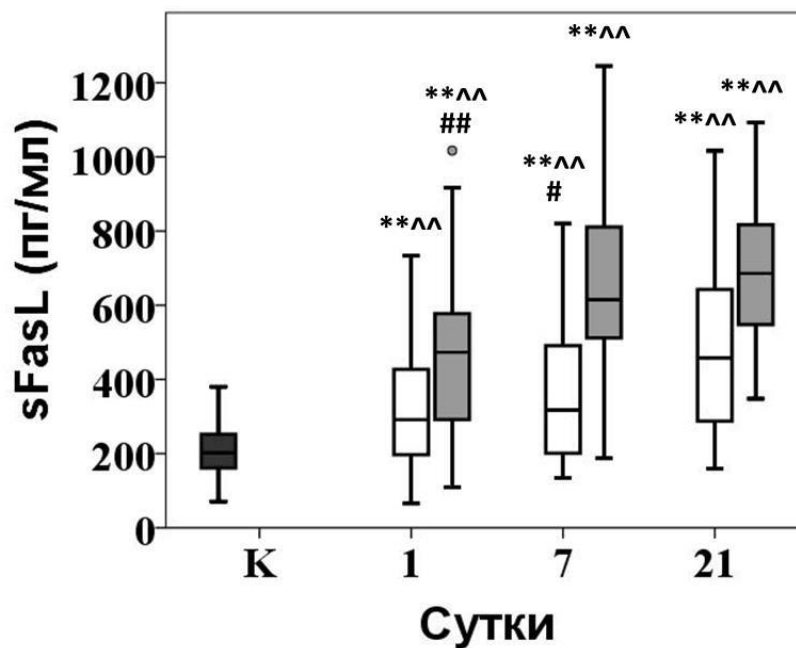


Рисунок 3.14 Концентрация sFasL у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

Концентрация sFas достоверно отличалась от группы контроля во все сроки исследования как в группе пациентов с благоприятным, так и с неблагоприятным исходом ($p < 0,01$). В группе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ концентрация sFas составила $149,43 \pm 77,55$ пг/мл, $179,77 \pm 101,85$ пг/мл, $203,95 \pm 90,14$ пг/мл соответственно на 1, 7 и 21 сутки, для группы с неблагоприятным исходом $122,11 \pm 46,64$ пг/мл на 1 сутки, $179,29 \pm 49,90$ пг/мл на 7 сутки, $190,07 \pm 42,48$ пг/мл на 21 сутки исследования. Достоверных различий значений концентрации sFas между подгруппами не выявлено. Динамика показателя в подгруппах повторяла тренд общей выборки, однако достоверное нарастание концентрации отмечено только во временном интервале 1-7 сутки в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ ($p < 0,01$) (Рисунок 3.15).

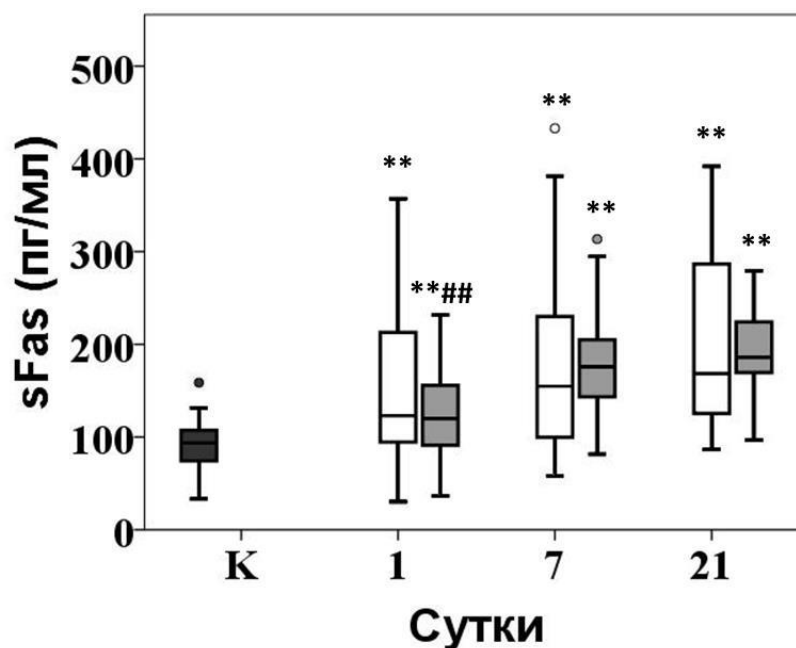


Рисунок 3.15 Концентрация sFas у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

Математическое ожидание отношения sFasL к sFas на 1 сутки исследования для пациентов с благоприятным исходом составило $2,22 \pm 0,60$ и достоверно от группы контроля не отличалось, тогда как для пациентов с неблагоприятным исходом ИИ равнялось $3,71 \pm 0,60$, $p < 0,01$. В остальные сроки исследования получены следующие значения показателя для подгруппы с благоприятным исходом: $2,10 \pm 0,55$ на 7 (отличие от контроля: $p < 0,05$) и $2,39 \pm 0,74$ на 21 сутки ($p > 0,05$); для подгруппы с неблагоприятным исходом: $3,63 \pm 0,57$, $3,65 \pm 0,68$ на 7 и 21 сутки соответственно ($p < 0,01$). Различия значений показателя между подгруппами были достоверными во все сроки исследования ($p < 0,01$). Достоверных изменений показателя в подгруппе неблагоприятного исхода не наблюдалось ни в одном временном интервале, тогда как у пациентов с благоприятным исходом отмечен его достоверный рост в интервале 7 – 21 сутки (Рисунок 3.16).

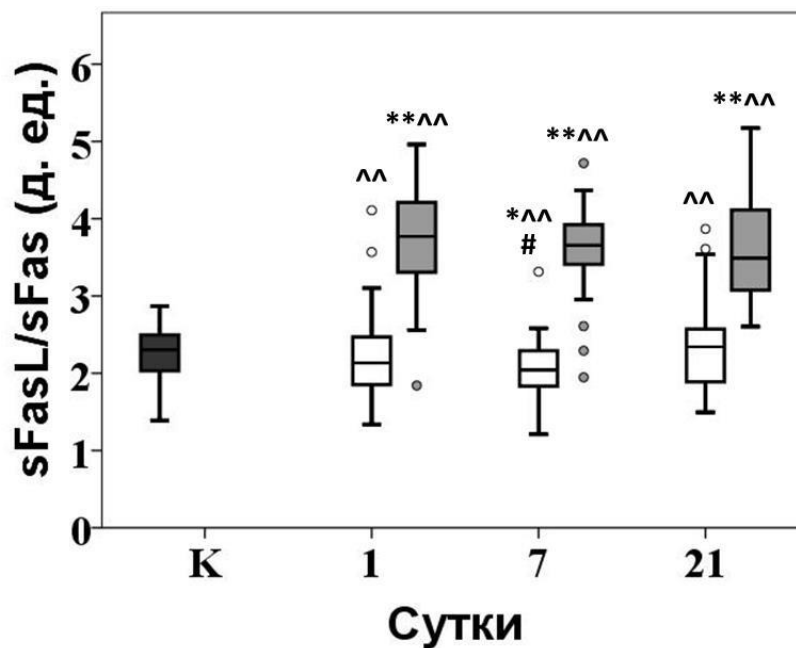


Рисунок 3.16 Отношение концентраций sFasL и sFas у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

В подгруппах пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами были выявлены достоверные различия в содержании CD3CD95 позитивных лимфоцитов во все сроки исследования ($p < 0,01$ на 1 и 21 сутки, $p < 0,05$ на 7 сутки), так на 1 сутки соответственно для групп с благоприятным и неблагоприятным исходами оно составило - $0,44 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,18 \pm 4,29\%$) и $0,59 \pm 0,19 \cdot 10^9/\text{л}$ ($35,65 \pm 4,17\%$), на 7 сутки - $0,49 \pm 0,20 \cdot 10^9/\text{л}$ ($28,37 \pm 7,93\%$) и $0,39 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$ ($17,83 \pm 5,10\%$), на 21 - $0,27 \pm 0,09 \cdot 10^9/\text{л}$ ($14,93 \pm 4,46\%$) и $0,51 \pm 0,19 \cdot 10^9/\text{л}$ ($32,63 \pm 5,44\%$). Динамика абсолютного и процентного содержания CD3CD95+ позитивных лимфоцитов совпадала внутри подгрупп. Так для подгруппы благоприятного исхода в первую неделю исследования отмечался рост показателя ($p < 0,01$ для процентного содержания) с последующим достоверным его понижением к концу острого периода ($p < 0,01$ для процентного и абсолютного содержания). При этом в подгруппе неблагоприятного исхода динамика была другая: к 7 суткам пребывания пациентов в стационаре наблюдался достоверный спад как

абсолютного ($p < 0,01$) так и процентного ($p < 0,01$) содержания CD3CD95+ позитивных лимфоцитов, а к завершению острого периода его достоверный рост ($p < 0,01$ для процентного и абсолютного содержания). От контрольных значений в обеих подгруппах отмечалось достоверное отличие как для абсолютного так и для относительного содержания CD3CD95+ позитивных лимфоцитов (Рисунок 3.17, Рисунок 3.18). Для показателя sFasL-эффективности достоверные отличия между группами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом были выявлены на 1 ($p < 0,05$) и 7 ($p < 0,01$) сутки исследования. При неблагоприятном исходе на момент поступления в стационар показатель был равен $7,02 \pm 3,52$, а при благоприятном $6,22 \pm 3,90$, на 7 сутки соответственно $10,92 \pm 4,74$ и $5,11 \pm 3,20$. В динамике этого показателя были выявлены достоверные колебания. Так при благоприятном исходе к 21 суткам происходило достоверное ($p < 0,01$) повышение уровня показателя sFasL-эффективности относительно седьмых с $5,11 \pm 3,20$ до $9,90 \pm 4,84$. При неблагоприятном исходе отмечался достоверный ($p < 0,01$) пик на 7 сутки исследования: значения показателя на 1, 7 и 21 сутки составляли соответственно - $7,02 \pm 3,52$, $10,92 \pm 4,74$, $8,59 \pm 5,16$ (Рисунок 3.19).

Таким образом, при развитии ИИ в периферической крови закономерно увеличиваются концентрации растворимых лиганда и рецептора Fas и они прогрессивно нарастают в течение острого периода.

Соотношение концентраций растворимых лиганда и рецептора Fas достоверно увеличивается в 1 сутки после развития ИИ лишь у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше 5.

Для динамики соотношения концентраций растворимых лиганда и рецептора Fas у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, характерен рост показателя во временном интервале 7 – 21 сутки после развития ИИ.

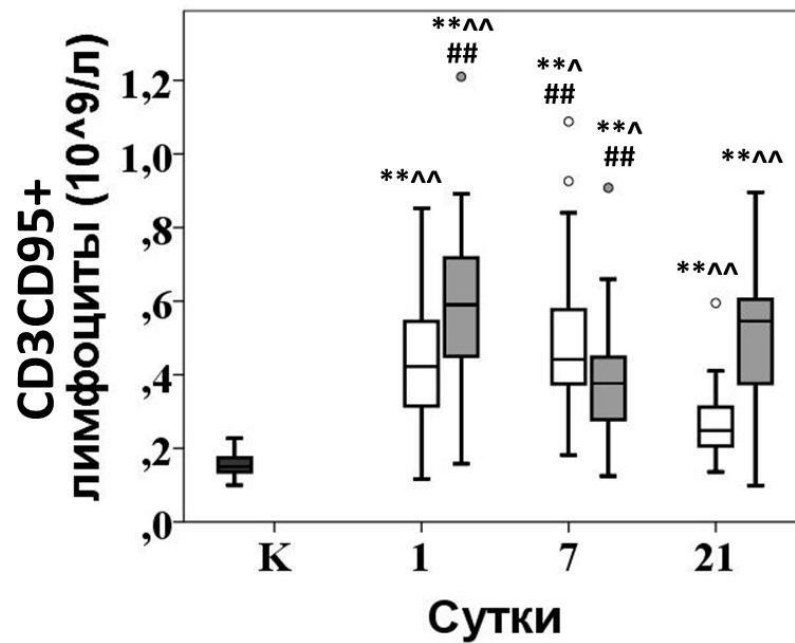


Рисунок 3.17 Абсолютное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) ($\cdot 10^9/\text{л}$), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

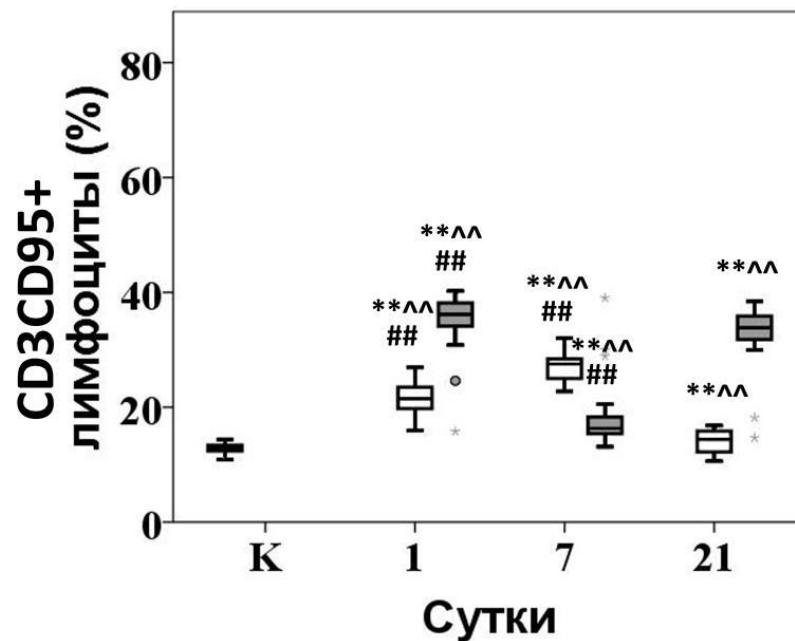


Рисунок 3.18 Относительное содержание CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) (%), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

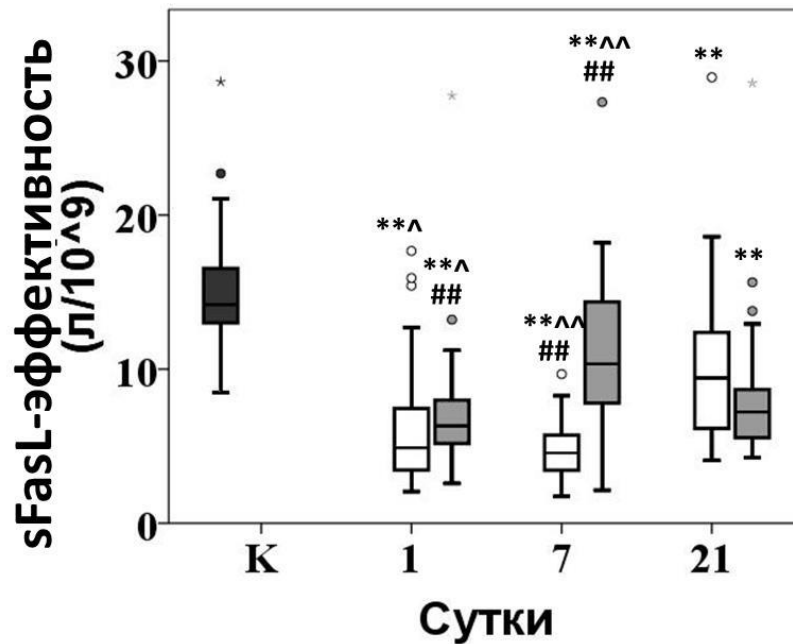


Рисунок 3.19 Выраженность sFasL-эффективности периферической крови на 1, 7 и 21 сутки у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ и в группе контроля (К), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

При использовании показателя, учитывающего количество лимфоцитов, способных связывать растворимый лиганд Fas, отмечен выраженный рост доли потенциально несвязанного растворимого Fas лиганда во временном интервале 7 – 21 суток после развития ИИ у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS, в исходе острого периода меньше 5. Для пациентов, чей уровень неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше 5 характерно снижение доли потенциально несвязанного растворимого Fas лиганда в указанном временном интервале.

Полученные нами данные дают основания заключить, что в остром периоде ИИ существуют определенные закономерности динамики растворимых апоптозиндуцирующих молекул системы Fas впервые выявленные в настоящей работе, которые зависят от наличия определенных факторов сердечно-сосудистого риска, патогенетического подтипа ИИ, и

уровня неврологического дефекта при исходе его острого периода [86, 87, 107].

3.2 Динамика показателей регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы TNF α

В периферической крови пациентов, перенесших ИИ, во все сроки исследования наблюдалось статистически достоверное повышение содержания TNF α относительно группы контроля ($p < 0,01$), где оно составляло $14,33 \pm 1,48$ пг/мл. В группе исследования на первые сутки после ИИ концентрация TNF α была равна $35,65 \pm 10,38$ пг/мл, на 7 – $28,48 \pm 8,37$ пг/мл, на 21 – $30,64 \pm 10,45$ пг/мл (Рисунок 3.20). Концентрация растворимого TNF-R1 достоверно отличалась от группы контроля лишь на 7 сутки исследования ($p < 0,05$): для группы контроля значение концентрации sTNF-R1 составляло $291,07 \pm 54,30$ пг/мл, для группы исследования на 1, 7 и 21 сутки соответственно $297,59 \pm 107,05$, $329,04 \pm 97,69$, $334,85 \pm 185,55$ пг/мл (Рисунок 3.21). Отношение концентраций TNF α к sTNF-R1 в группе контроля было равным $50,23 \pm 6,93 \cdot 10^{-3}$, что достоверно отличалось от группы исследования во все сроки ($p < 0,01$): на 1 сутки ($123,49 \pm 27,06 \cdot 10^{-3}$), на 7 сутки ($88,20 \pm 15,43 \cdot 10^{-3}$) и на 21 сутки ($103,52 \pm 30,56 \cdot 10^{-3}$) (Рисунок 3.22). Наибольшего значения концентрации TNF α и sTNF-R1 достигали уже на 1 сутки исследования у пациентов с ИИ неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) и были равны соответственно $42,63 \pm 10,04$ и $419,78 \pm 77,14$ пг/мл, на 7 сутки – с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ ($40,30 \pm 4,86$ и $395,29 \pm 54,35$ пг/мл), на 21 – с атеротромботическим и составляли $38,60 \pm 2,73$ и $467,36 \pm 191,61$ пг/мл, отличия от контроля были во все сроки исследования достоверными для всех патогенетических подтипов ($p < 0,01$), за исключением концентрации sTNF-R1 на 21 сутки у пациентов с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ и на 7 сутки у пациентов с ИИ неустановленной этиологии (Рисунок 3.23, Рисунок 3.24).

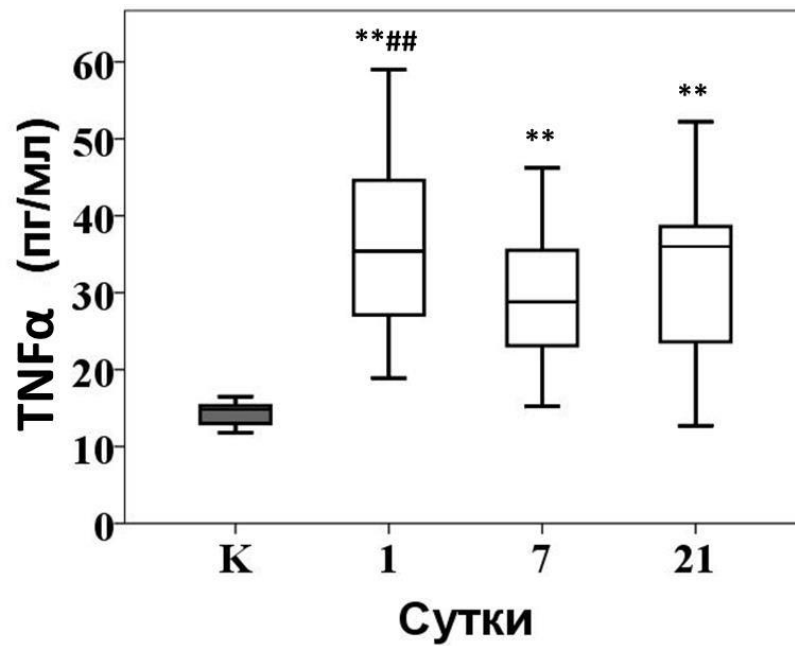


Рисунок 3.20 Концентрация TNFα в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

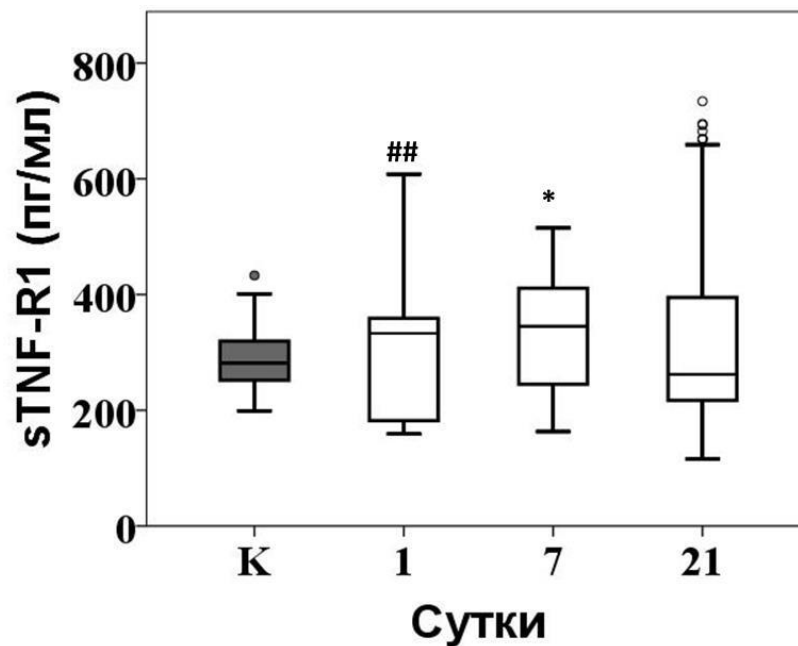


Рисунок 3.21 Концентрация sTNF-R1 в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

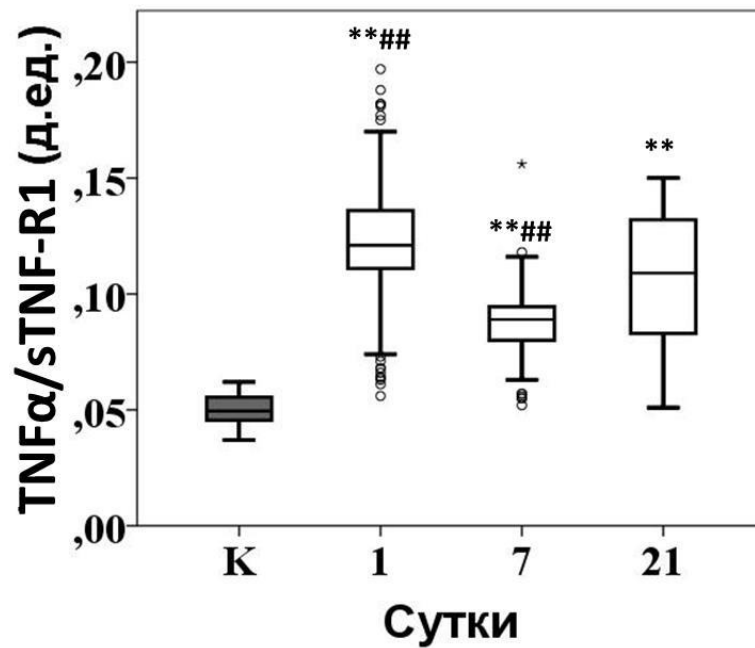


Рисунок 3.22 Отношение концентраций $TNF\alpha$ и sTNF-R1 в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21 сутки и в группе контроля (K) (пг/мл), остальные обозначения такие же как на рисунке 3.1

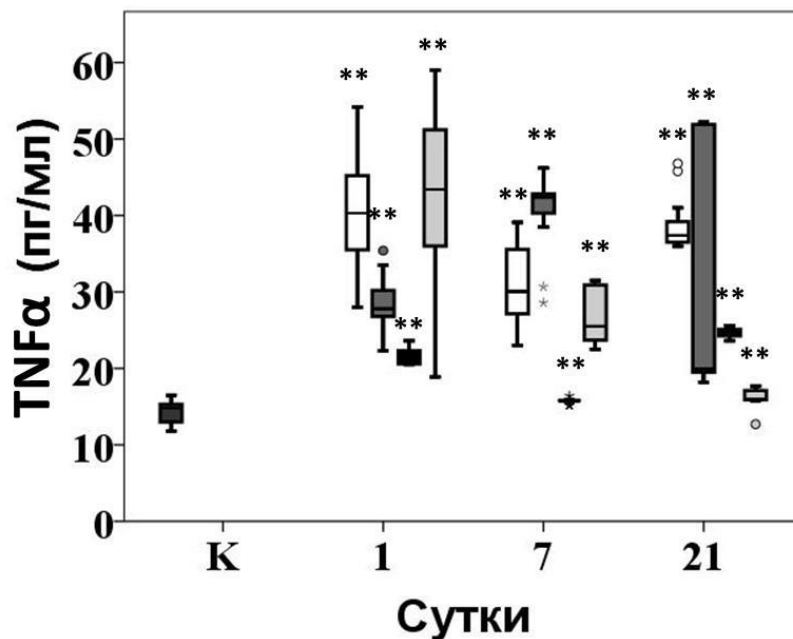


Рисунок 3.23 Концентрация $TNF\alpha$ в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (K) (пг/мл) атеротромботический - белый, кардиоэмболический - темно-серый, лакунарный - черный, неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) - светло-серый

Наибольшее значение отношения концентраций $\text{TNF}\alpha$ к sTNF-R1 во все сроки исследования было у пациентов с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ: $153,27 \pm 26,44$, $104,72 \pm 23,13$, $117,34 \pm 15,12 \cdot 10^{-3}$ соответственно на 1, 7 и 21 сутки исследования (Рисунок 3.25).

Наименьшие значения концентрации $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 на 1 и 7 сутки исследования принимали у пациентов с лакунарным патогенетическим подтипом ИИ (на 1 сутки - соответственно $21,48 \pm 1,08$ и $167,96 \pm 47,81$ пг/мл, на 7 сутки - $15,69 \pm 0,31$ и $177,71 \pm 8,53$ пг/мл), на 21 – у пациентов с ИИ неизвестного генеза: соответственно $16,18 \pm 1,51$ и $179,89 \pm 71,71$ пг/мл.

Для пациентов всех патогенетических подтипов ИИ была характерна тенденция снижения значения отношения концентраций $\text{TNF}\alpha$ к sTNF-R1 с 1 к 21 суткам исследования на фоне достоверно повышенного значения по сравнению с контрольным во все сроки исследования, при этом наименьших значений отношение достигало на 7 сутки.

Достоверных различий у пациентов с лево- и правосторонней локализацией очага, а также у мужчин и женщин в содержании $\text{TNF}\alpha$, sTNF-R1 и отношении их концентраций периферической крови пациентов групп исследования и контроля во все сроки исследования выявлено не было (Таблица 3.1).

На концентрацию $\text{TNF}\alpha$ в крови пациентов после ИИ достоверно оказывало влияние наличие следующих факторов сердечно-сосудистого риска: наличие артериальной гипертензии влияло на концентрацию $\text{TNF}\alpha$ на 21 сутки исследования ($p < 0,05$), гиперхолестеринемия во все сроки ($p < 0,01$), сахарный диабет на 1 сутки ($p < 0,05$), наличие ИБС на 1 и 21 сутки ($p < 0,01$) и мерцательной аритмии на 1 сутки ($p < 0,01$). На концентрацию sTNF-R1 влияли: гиперхолестеринемия во все сроки исследования ($p < 0,05$ на 1 сутки, $p < 0,01$ на 7 и 21 сутки), ИБС во все сроки исследования ($p < 0,05$ на 7 сутки, $p < 0,01$ на 1 и 21 сутки), мерцательная аритмия на 1 сутки ($p < 0,01$).

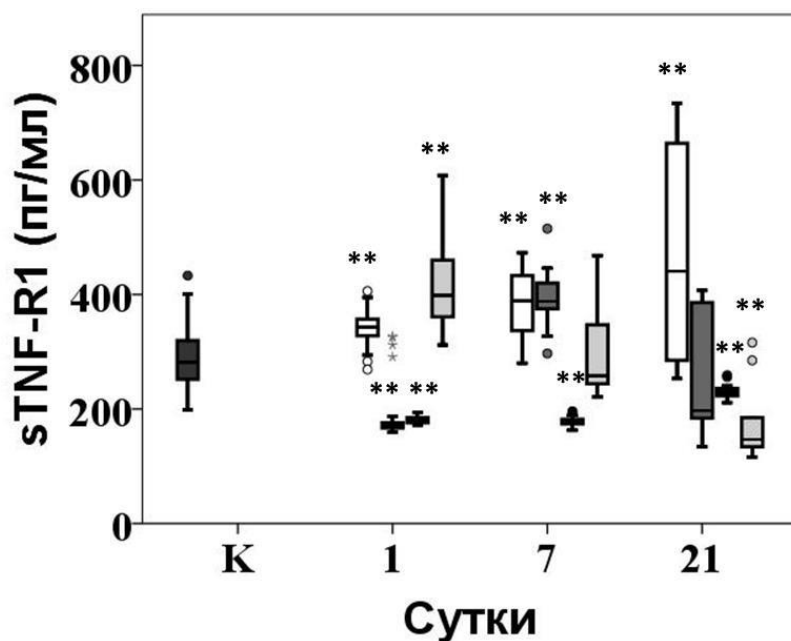


Рисунок 3.24 Концентрация sTNF-R1 в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) (пг/мл) атеротромботический - белый, кардиоэмболический – темно-серый, лакунарный – черный, неизвестного генеза (в том числе сочетание нескольких возможных причин) – светло-серый

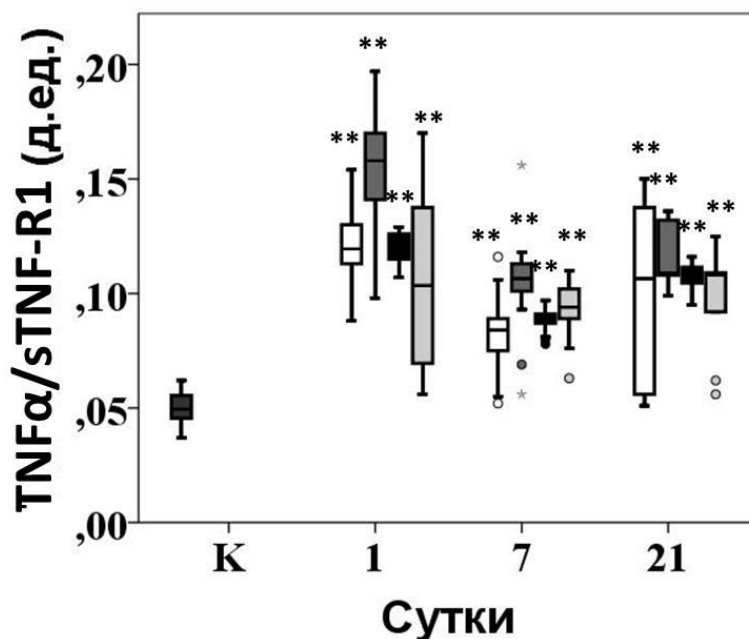


Рисунок 3.25 Отношение концентраций TNFα и sTNF-R1 в периферической крови у пациентов с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1, 7 и 21 сутки исследования и в группе контроля (К) , остальные обозначения, как на рисунке 3.24

Соотношение концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 зависело от наличия следующих сердечно-сосудистых факторов риска: гиперхолестеринемия на 7 сутки ($p<0,05$), наличие мерцательной аритмии на 1 сутки ($p<0,01$).

В подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ (балл по NIHSS на 21 сутки меньше 5) концентрация $\text{TNF}\alpha$ достоверно отличалась от группы контроля во все сроки исследования ($p<0,01$), на 1 сутки она была равна $32,69 \pm 11,16$ пг/мл, на 7 сутки – $26,55 \pm 9,91$ пг/мл, на 21 – $30,78 \pm 10,59$ пг/мл, тогда как концентрация sTNF-R1 в этой подгруппе достоверно отличалась от группы контроля лишь на 21 сутки ($p<0,05$) и была равна $262,39 \pm 83,88$ пг/мл. В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом концентрация $\text{TNF}\alpha$ также достоверно отличалась от группы контроля во все сроки исследования ($p<0,01$) и составляла $39,61 \pm 10,55$ пг/мл, $31,80 \pm 6,74$ пг/мл, $30,44 \pm 10,46$ пг/мл на 1, 7 и 21 сутки соответственно, концентрация sTNF-R1 в этой группе достоверные отличия от группы контроля ($p<0,01$) имела только на 7 сутки, когда принимала значение $338,67 \pm 62,17$ пг/мл (Рисунок 3.26, Рисунок 3.27).

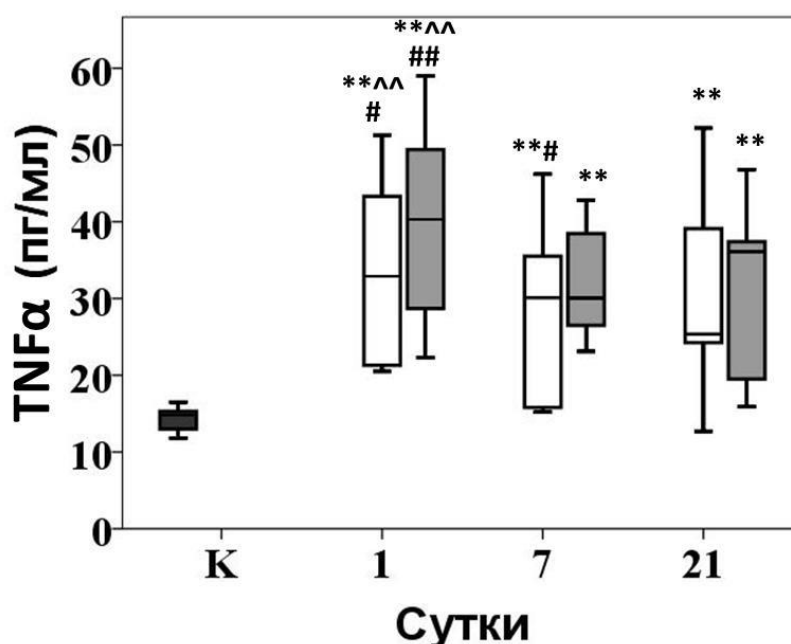


Рисунок 3.26 Концентрация $\text{TNF}\alpha$ у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 3.1

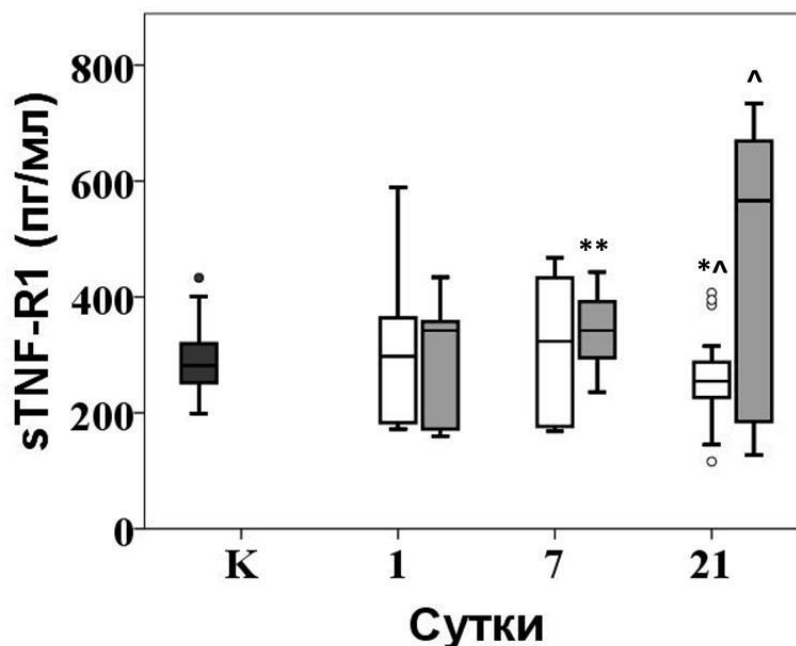


Рисунок 3.27 Концентрация sTNF-R1 у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 3.1

Отношение концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 во все сроки исследования как в подгруппе пациентов с благоприятным, так и с неблагоприятным исходом острого периода ИИ достоверно отличалось от группы контроля ($p < 0,01$); различия между подгруппами по данному показателю были достоверными во все сроки исследования ($p < 0,01$). Для подгруппы пациентов с благоприятным исходом значение соотношения концентраций составляло на 1, 7 и 21 сутки соответственно $113,91 \pm 17,41$, $88,09 \pm 14,74$, $117,53 \pm 21,24$ пг/мл, а для подгруппы с неблагоприятным исходом - $140,57 \pm 25,47$, $94,75 \pm 14,30$, $83,35 \pm 30,97$ пг/мл (Рисунок 3.28).

Таким образом, при развитии ИИ уже в первые его сутки в периферической крови закономерно увеличивается концентрация $\text{TNF}\alpha$, которая затем достоверно снижается в течение первой недели острого периода, оставаясь при этом выше контрольных показателей.

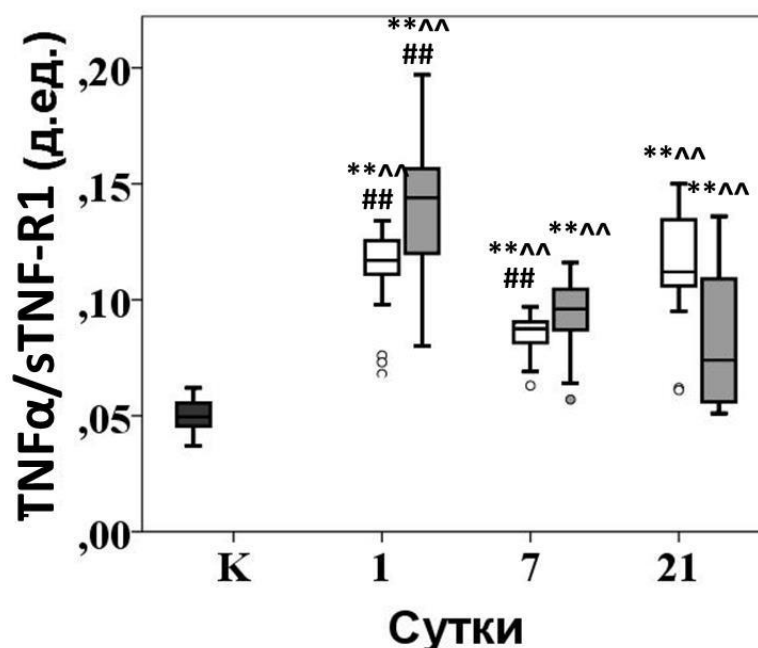


Рисунок 3.28 Отношение концентраций $TNF\alpha$ и $sTNF-R1$ у пациентов на 1, 7 и 21 сутки после ИИ с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом и в группе контроля (К)($\cdot 10^{-3}$), остальные обозначения, как на рисунке 3.1

Соотношение концентраций $TNF\alpha$ и $sTNF-R1$ увеличивается при развитии ИИ также в первые его сутки и остается повышенным в течение всего острого периода ИИ.

Во все сроки исследования соотношения концентраций $TNF\alpha$ и $sTNF-R1$ имеют достоверные различия у пациентов с ИИ при уровне неврологического дефицита по шкале NIHSS в исходе острого периода ИИ больше и меньше 5.

Для динамики соотношения концентраций $TNF\alpha$ и $sTNF-R1$ у пациентов с ИИ при уровне неврологического дефицита по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, характерен рост показателя во временном интервале 7 – 21 сутки после развития ИИ.

В целом, полученные фактические данные дают основания заключить, что в остром периоде ИИ существуют закономерности динамики растворимых апоптозиндуцирующих молекул систем Fas и TNF, знание которых может быть использовано для создания патогенетической

концептуальной модели острого периода ИИ и разработки алгоритма управления ее основными параметрами, что необходимо для разработки новых эффективных стратегий терапевтического воздействия [88].

Клинические примеры:

Пациент К.Б., 75 лет. Диагноз: ЦВБ: инфаркт головного мозга от 01.02.2012. Синдром левой средней мозговой артерии. Гипертоническая болезнь III степени, риск 4. Нарушение липидного обмена. Сахарный диабет 2 типа.

При поступлении: Состояние средней тяжести. В сознании, ориентирован. Моторная афазия. Асимметрия лица - паралич нижней группы мышц. Язык девирует вправо. Правосторонний гемипарез до 2 баллов. Правосторонняя гемигипестезия. Балл по шкале оценки тяжести неврологического дефицита Национального института здоровья – 12.

Соотношение на 1 сутки $sFasL/sFas = 162.42/121.59 = 1.34$

На 21 сутки при выписке: Состояние удовлетворительное. В сознании, ориентирован, контактирует. Элементы моторной афазии. Асимметрия лица в виде сглаженности правой носогубной складки. Правосторонний гемипарез до 4 баллов. Балл по шкале оценки тяжести неврологического дефицита Национального института здоровья сутки – 4.

Пациент распределен в подгруппу благоприятного исхода острого периода ИИ.

Пациент Л.М., 78 лет. Диагноз: ЦВБ: инфаркт головного мозга от 01.02.2012. Синдром левой средней мозговой артерии. Гипертоническая болезнь III степени, риск 4. Нарушение липидного обмена.

При поступлении: Состояние средней тяжести. В сознании, ориентирован. Сенсо-моторная афазия. Асимметрия лица - паралич нижней группы мышц. Язык девирует вправо. Правосторонний гемипарез до 2 баллов в руке, до 3 баллов в ноге. Правосторонняя гемигипестезия. Балл по

шкале оценки тяжести неврологического дефицита Национального института здоровья – 11.

Соотношение на 1 сутки sFasL/sFas=542.09/129.82= 4.18

Состояние на 21 сутки пребывания в стационаре: Состояние средней тяжести. В сознании, ориентирован. Сенсо-моторная афазия. Асимметрия лица - паралич нижней группы мышц. Язык девирует вправо. Правосторонний гемипарез до 3 баллов. Правосторонняя гемигипестезия. Балл по шкале оценки тяжести неврологического дефицита Национального института здоровья – 10.

Пациент распределен в подгруппу неблагоприятного исхода острого периода ИИ.

Таблица 3.1 Динамика показателей растворимых регулирующих апоптоз молекул систем Fas и TNFα в периферической крови пациентов в остром периоде ишемического инсульта и группе контроля (К)

Параметр	сутки	В целом	Исход		Пол		Локализация	
			Благоприятный	Неблагоприятный	Мужской	Женский	ЛСМА	ПСМА
sFas (пг/мл)	К	92,27 ± 26,62			92,08 ± 20,61	92,44 ± 31,67		
	1	113,84 ± 56,37##	149,43 ± 77,55**	122,11 ± 46,64***#	112,00 ± 49,73##	115,61 ± 62,37##	109,76 ± 58,11##	116,85 ± 55,19***#
	7	167,25 ± 71,85***#	179,77 ± 101,85**	179,29 ± 49,90**	164,28 ± 71,16**	170,32 ± 73,11**#	156,30 ± 59,36**	177,79 ± 81,27**
	21	198,26 ± 74,22**	203,95 ± 90,14**	190,07 ± 42,48**	179,77 ± 62,96***^	217,36 ± 80,96***^	190,08 ± 76,02**	203,57 ± 73,59**
sFasL (пг/мл)	К	208,29 ± 67,05			201,69 ± 48,85	214,00 ± 80,93		
	1	342,37 ± 190,88***#	317,06 ± 153,34***^	459,44 ± 206,95***^#	337,47 ± 188,44***#	347,08 ± 194,29***#	333,71 ± 182,17***#	348,76 ± 197,85***#
	7	478,94 ± 248,51***#	363,11 ± 196,05***^#	656,75 ± 229,66***^	474,05 ± 246,32**	484,02 ± 253,02**	461,21 ± 221,18**	496,04 ± 273,24***#
	21	570,16 ± 245,26**	482,14 ± 231,41***^	696,92 ± 209,60***^	555,16 ± 265,45**	585,67 ± 226,00**	511,54 ± 243,43**	608,19 ± 242,12**
sFasL/sFas (д. ед.)	К	2,26 ± 0,33			2,21 ± 0,36	2,31 ± 0,30		
	1	2,98 ± 0,97**	2,22 ± 0,60^^	3,71 ± 0,60***^	2,90 ± 1,03*	3,06 ± 0,91**	2,96 ± 1,01**	2,99 ± 0,95**
	7	2,83 ± 0,91*	2,10 ± 0,55***^#	3,63 ± 0,57***^	2,86 ± 0,93	2,81 ± 0,90	2,91 ± 0,87**	2,76 ± 0,95
	21	2,91 ± 0,95**	2,39 ± 0,74^^	3,65 ± 0,68***^	3,03 ± 1,05*	2,78 ± 0,82	2,71 ± 0,94	3,03 ± 0,94**
sFasL-эффективность (л/10^9)	К	15,26 ± 4,08			14,47 ± 3,89	15,94 ± 4,25		
	1	7,72 ± 13,26***#	6,22 ± 3,90***^	7,02 ± 3,52***^#	9,13 ± 18,74	6,36 ± 2,44	7,06 ± 4,22***#	8,20 ± 17,13**
	7	9,89 ± 7,41**	5,11 ± 3,20***^#	10,92 ± 4,74***^#	9,38 ± 7,00	10,42 ± 7,85	11,01 ± 8,32**	8,82 ± 6,30***#
	21	9,36 ± 4,97**	9,90 ± 4,84**	8,59 ± 5,16**	9,33 ± 4,82	9,39 ± 5,21	7,18 ± 2,58***^	10,78 ± 5,63***^
TNFα (пг/мл)	К	14,33 ± 1,48			13,85 ± 1,74	14,75 ± 1,12		
	1	35,65 ± 10,38***#	32,69 ± 11,16***^#	39,61 ± 10,55***^#	35,62 ± 10,45***#	35,67 ± 10,38***#	34,88 ± 10,17***#	36,21 ± 10,55***#
	7	28,48 ± 8,37**	26,55 ± 9,91***#	31,80 ± 6,74**	29,91 ± 9,03**	27,00 ± 7,42***#	27,57 ± 8,45**	29,35 ± 8,28**
	21	30,64 ± 10,45**	30,78 ± 10,59**	30,44 ± 10,46**	29,60 ± 10,69**	31,71 ± 10,27**	31,76 ± 10,84**	29,91 ± 10,27**
sTNF-R1 (пг/мл)	К	291,07 ± 54,30			288,54 ± 63,68	293,27 ± 46,89		
	1	297,59 ± 107,05##	296,25 ± 119,08	292,84 ± 92,11	285,08 ± 106,60##	309,94 ± 106,74	282,70 ± 99,60#	308,92 ± 111,63
	7	329,04 ± 97,69*	307,81 ± 121,66	338,67 ± 62,17**	337,13 ± 94,03*	320,64 ± 101,56	326,25 ± 101,81	331,73 ± 94,41*#
	21	334,85 ± 185,55	262,39 ± 83,88*^	439,20 ± 237,90^	326,74 ± 193,22	343,23 ± 180,20	365,83 ± 206,08	314,76 ± 170,86
TNFα/sTNF-R1 (д.ед.)	К	50,23 ± 6,93			49,21 ± 7,90	51,12 ± 6,10		
	1	123,49 ± 27,06***#	113,91 ± 17,41***^#	140,57 ± 25,47***^#	124,92 ± 20,90***#	122,11 ± 31,96***#	123,01 ± 24,39***#	123,84 ± 29,01***#
	7	88,20 ± 15,43***#	88,09 ± 14,74***^#	94,75 ± 14,30***^	89,70 ± 16,41***#	86,63 ± 14,33***#	86,55 ± 16,85***#	89,78 ± 13,89***#
	21	103,52 ± 30,56**	117,53 ± 21,24***^	83,35 ± 30,97***^	104,10 ± 31,81**	102,93 ± 29,75**	99,94 ± 31,13**	105,85 ± 30,39**

Глава 4 Влияние регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α на течение и исход острого периода ишемического инсульта

Для оценки влияния апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α на течение острого периода ИИ на первом этапе был проведен корреляционный анализ, выявляющий возможные корреляционные связи клинических показателей, отражающих степень неврологического дефекта и темпы его восстановления, выраженные в баллах по шкале NIHSS, с содержанием растворимых лигандов и рецепторов систем TNF α и Fas, а также мембранных рецепторов Fas на CD3CD95 позитивных лимфоцитах в периферической крови во все сроки наблюдения.

На 1-е сутки исследования для системы Fas наиболее сильная корреляционная связь с уровнем неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS, была у показателя соотношения концентраций sFasL/sFas ($r = 0,662$, $p < 0,01$). При этом концентрации sFasL и sFas также имели статистически достоверные связи с выраженностью неврологического дефицита (соответственно $r = 0,632$ и $r = 0,388$, $p < 0,01$). Абсолютное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов на 1-е сутки исследования коррелировало с выраженностью неврологического дефицита по NIHSS ($r = 0,603$, $p < 0,01$). При распределении пациентов в подгруппы по типу исхода острого периода ИИ (балл по NIHSS на 21 сутки меньше или больше 5) в подгруппе пациентов с благоприятным исходом достоверная связь прослеживалась для показателя концентрации sFasL ($r = 0,352$, $p < 0,05$), абсолютного количества CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,819$, $p < 0,01$) и показателя sFasL-эффективности ($r = -0,695$, $p < 0,01$) (Таблица 4.1).

Для системы TNF α в общем в группе исследования наиболее выраженная корреляционная связь с баллом по шкале NIHSS на 1-е сутки исследования прослеживалась для показателя «соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1» ($r = 0,718$, $p < 0,01$). Также достоверной была связь с концентрацией TNF α ($r = 0,576$, $p < 0,01$).

Таблица 4.1 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p<0,05$, ** $p<0,01$) показателей регулирующей апоптоз системы Fas и выраженности неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS на текущие сутки исследования

Сутки	Показатель	В группе исследования	Исход острого периода ИИ	
			Благоприятный	Неблагоприятный
1	sFas (пг/мл)	0,388**	0,315	0,374**
7	sFas (пг/мл)	0,554**	0,548**	0,419*
21	sFas (пг/мл)	0,169	0,351*	-0,074
1	sFasL (пг/мл)	0,632**	0,352*	0,493**
7	sFasL (пг/мл)	0,693**	0,496**	0,460**
21	sFasL (пг/мл)	0,496**	0,334*	0,138
1	sFasL/sFas (д. ед.)	0,662**	-0,187	0,605**
7	sFasL/sFas (д. ед.)	0,550**	-0,191	0,370*
21	sFasL/sFas (д. ед.)	0,701**	0,323	0,322
1	sFasL-эффективность ($л/10^9$)	-0,132	-0,695**	-0,04
7	sFasL-эффективность ($л/10^9$)	0,244*	-0,638**	-0,193
21	sFasL-эффективность ($л/10^9$)	-0,152	0,287	-0,475*
1	CD3CD95+ лимфоциты ($10^9/л$)	0,603**	0,819**	0,305*
7	CD3CD95+ лимфоциты ($10^9/л$)	0,038	0,596**	0,28
21	CD3CD95+ лимфоциты ($10^9/л$)	0,565**	-0,22	0,670**

В подгруппах благоприятного и неблагоприятного исходов для концентрации sTNF-R1 отмечались разнонаправленные достоверные связи (соответственно $r= 0,754$ и $r= -0,387$, $p<0,01$), для концентрации TNF α достоверной была корреляция лишь в подгруппе благоприятного исхода ($r= 0,913$, $p<0,01$), для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 – в обеих подгруппах (соответственно $r= 0,337$ и $r= 0,857$, $p<0,01$) (Таблица 4.2).

Таблица 4.2 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p<0,05$, ** $p<0,01$) показателей регулирующей апоптоз системы TNF α и выраженности неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS на текущие сутки исследования

Сутки	Показатель	В группе исследования	Исход острого периода ИИ	
			Благоприятный	Неблагоприятный
1	sTNF-R1 (пг/мл)	0,029	0,754**	-0,387**
7	sTNF-R1 (пг/мл)	0,282**	0,748**	-0,383*
21	sTNF-R1 (пг/мл)	0,246	0,391*	-0,366
1	TNF α (пг/мл)	0,576**	0,913**	0,199
7	TNF α (пг/мл)	0,491**	0,819**	0,16
21	TNF α (пг/мл)	0,058	0,336*	-0,068
1	TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	0,718**	0,337*	0,857**
7	TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	0,278**	-0,342*	0,437**
21	TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	-0,274*	0,495**	0,327

На 7-е сутки после ИИ для системы Fas наибольшая корреляция с уровнем неврологического дефицита в баллах по NIHSS была у показателя sFasL ($r = 0,693$, $p < 0,01$). Она была ниже для соотношения концентраций sFasL/sFas ($r = 0,550$, $p < 0,01$), концентрации sFas ($r = 0,554$, $p < 0,01$) и абсолютного количества CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,554$, $p < 0,01$). На этом сроке исследования с количеством баллов по NIHSS также была ассоциирована sFasL-эффективность ($r = 0,244$, $p < 0,01$). У пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ на этом сроке исследования достоверные связи были отмечены для показателей: концентрация sFas ($r = 0,548$, $p < 0,01$), концентрация sFasL ($r = 0,496$, $p < 0,01$), sFasL-эффективность ($r = -0,638$, $p < 0,01$), абсолютное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,596$, $p < 0,01$). При неблагоприятном исходе достоверные зависимости были со следующими параметрами: концентрации sFas ($r = 0,419$, $p < 0,01$), концентрация sFasL ($r = 0,460$, $p < 0,01$), соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = 0,370$, $p < 0,05$).

Уровень неврологического дефицита на 7-е сутки после развития ИИ был связан с уровнем содержания в периферической крови растворимых лигандов и рецепторов системы TNF α . Так, в группе исследования достоверные корреляционные связи были характерны для всех исследуемых параметров: концентрация sTNF-R1 ($r = 0,282$, $p < 0,01$), концентрация TNF α ($r = 0,491$, $p < 0,01$) и соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = 0,278$, $p < 0,01$). В подгруппах благоприятного и неблагоприятного исходов для концентрации sTNF-R1 так же как и на 1-е сутки отмечались разнонаправленные достоверные зависимости (соответственно $r = 0,748$, $p < 0,01$ и $r = -0,383$, $p < 0,05$). Для концентрации TNF α достоверной была зависимость лишь в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,819$, $p < 0,01$), для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 – в обеих подгруппах (соответственно $r = -0,342$, $p < 0,05$ и $r = 0,437$, $p < 0,01$).

К 21-м суткам с выраженностью неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS в общей выборке наиболее сильная связь прослеживалась у

показателя соотношения концентраций sFasL/sFas ($r = 0,701$, $p < 0,01$), для концентрации sFasL и абсолютного количества CD3CD95 позитивных лимфоцитов она также была положительная и достоверная (соответственно $r = 0,496$ и $r = 0,565$, $p < 0,01$). При распределении пациентов по типу исхода острого периода ИИ достоверные зависимости указанных параметров прослеживались в подгруппе благоприятного исхода для параметров концентрация sFasL ($r = 0,334$, $p < 0,05$) и концентрация sFas ($r = 0,351$, $p < 0,05$), а в подгруппе неблагоприятного исхода для параметров sFasL-эффективность ($r = -0,475$, $p < 0,05$) и абсолютное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,670$, $p < 0,01$).

Достоверное влияние на выраженность неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ в общей выборке оказывало соотношение концентраций растворимых лиганда и рецептора системы TNF α на том же сроке исследования ($r = -0,274$, $p < 0,05$). В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ достоверные корреляции были выявлены со всеми исследуемыми показателями: концентрация TNF α ($r = 0,336$, $p < 0,05$), концентрация sTNF-R1 ($r = 0,391$, $p < 0,05$) и их соотношение ($r = 0,495$, $p < 0,05$), тогда как в подгруппе неблагоприятного исхода ни с одним из исследованных параметров.

Для оценки наличия связи апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных взаимодействий систем Fas и TNF α и скорости (темпа) функционального восстановления в остром периоде ИИ был проведен корреляционный анализ, выявляющий возможные зависимости между показателями темпа изменения выраженности неврологического дефицита (отношение разности баллов по шкале для оценки неврологического дефекта после острого нарушения мозгового кровообращения NIHSS ко времени в неделях по формуле: $T = (Z1-Z2)/n$, где: T – темп восстановления; (Z1-Z2) – разность баллов по шкале NIHSS за данный временной промежуток; n – количество недель в данном временном промежутке) и концентрации растворимых лигандов и рецепторов систем TNF α и Fas, а также мембранных рецепторов Fas на CD3+

лимфоцитах периферической крови. Вычисления проводили для следующих временных интервалов: 1-7-е сутки – на 1-е сутки, для интервала 7-21-е сутки – 1-е и 7-е сутки, для интервала 1-21-е сутки – 1-е и 7-е сутки исследования.

В результате проведения этого статистического исследования выявлены закономерные достоверные связи с темпом восстановления во временном интервале 1-7-е сутки в общей выборке. Они имели следующие показатели систем Fas и TNF α (значение показателя на 1-е сутки, т.е. на момент начала рассматриваемого временного интервала): абсолютное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,248$, $p<0,01$), концентрация TNF α ($r= 0,281$, $p<0,01$) и соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,255$, $p<0,01$). При распределении пациентов на подгруппы с учетом уровня неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ в подгруппе благоприятного исхода достоверные корреляции выявлены для концентрации sFasL ($r= 0,466$, $p<0,01$), абсолютного количества CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,574$, $p<0,01$), концентрации TNF α ($r= 0,620$, $p<0,01$), концентрации sTNF-R1 ($r= 0,507$, $p<0,01$); в подгруппе неблагоприятного исхода - лишь для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,512$, $p<0,01$).

Большее количество достоверных зависимостей значений показателей систем Fas и TNF α в 1-е сутки исследования от темпа восстановления было выявлено во временном интервале 7-21-е сутки. Так, в общей выборке - для параметров sFasL-эффективность ($r= -0,502$, $p<0,01$), абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,605$, $p<0,01$), концентрация TNF α ($r= 0,659$, $p<0,01$), концентрация sTNF-R1 ($r= 0,434$, $p<0,01$), соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,281$, $p<0,05$); в подгруппе благоприятного исхода – для sFasL-эффективности ($r= -0,669$, $p<0,01$), абсолютного содержания CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,684$, $p<0,01$), концентрации TNF α ($r= 0,777$, $p<0,01$), концентрации sTNF-R1 ($r= 0,678$, $p<0,01$). В подгруппе неблагоприятного исхода наблюдались схожие зависимости, но связи были слабее: для sFasL- эффективности ($r= -0,411$,

$p < 0,05$), абсолютного содержания CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,545$, $p < 0,01$), концентрации $\text{TNF}\alpha$ ($r = 0,497$, $p < 0,05$), соотношения концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 ($r = 0,419$, $p < 0,05$).

Средний темп изменения уровня неврологического дефицита пациентов после ИИ за весь острый период (т.е. во временном интервале 1 – 21-е сутки исследования) в общей выборке коррелировал со значениями следующих показателей, измеренных на 1-е сутки: соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = -0,311$, $p < 0,01$), концентрация sFas ($r = 0,224$, $p < 0,05$), концентрация sTNF-R1 ($r = 0,251$, $p < 0,05$). Для подгруппы пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ достоверные зависимости среднего темпа за острый период были с концентрацией sFasL ($r = 0,405$, $p < 0,05$), sFasL- эффективностью ($r = -0,615$, $p < 0,01$), абсолютным содержанием CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,802$, $p < 0,01$), концентрацией $\text{TNF}\alpha$ ($r = 0,874$, $p < 0,01$), концентрацией sTNF-R1 ($r = 0,702$, $p < 0,01$); при неблагоприятном исходе только с двумя показателями: sFasL- эффективность ($r = 0,390$, $p < 0,01$) и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = -0,270$, $p < 0,05$).

С темпом восстановления во временном интервале 7-21-е сутки достоверные связи имели следующие значения показателей систем Fas и $\text{TNF}\alpha$ на 7-е сутки исследования: в общей выборке - концентрация sFasL ($r = 0,267$, $p < 0,05$), концентрация sFas ($r = 0,381$, $p < 0,01$), sFasL- эффективность ($r = -0,310$, $p < 0,05$) и абсолютное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,389$, $p < 0,01$), концентрация $\text{TNF}\alpha$ ($r = 0,493$, $p < 0,01$), концентрация sTNF-R1 ($r = 0,503$, $p < 0,01$). Для подгруппы пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ были характерны те же корреляции, что и для общей выборки, однако коэффициенты корреляции для всех параметров имели более высокие значения: с концентрацией sFasL ($r = 0,448$, $p < 0,01$), концентрацией sFas ($r = 0,486$, $p < 0,01$), sFasL-агрессией ($r = -0,641$, $p < 0,01$) и абсолютным количеством CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,586$, $p < 0,01$), концентрацией $\text{TNF}\alpha$ ($r = 0,739$, $p < 0,01$),

концентрацией sTNF-R1 ($r = 0,666$, $p < 0,01$). Для группы неблагоприятного исхода достоверных корреляционных связей выявлено не было.

Средний темп изменения уровня неврологического дефицита пациентов после ИИ во временном интервале 1 – 21-е сутки исследования, в общей выборке коррелировал со значениями следующих показателей, измеренных на 7-е сутки: sFasL-эффективностью ($r = -0,265$, $p < 0,05$), соотношением концентраций sFasL/sFas ($r = -0,254$, $p < 0,05$), концентрациями TNF α ($r = 0,403$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = 0,416$, $p < 0,01$). При распределении перенесших ИИ пациентов на подгруппы по типу исхода острого периода ИИ достоверные корреляции были выявлены лишь в подгруппе благоприятного исхода: с показателями концентраций sFasL ($r = 0,435$, $p < 0,05$), sFas ($r = 0,368$, $p < 0,05$), sFasL-эффективностью ($r = -0,516$, $p < 0,01$) и абсолютным количеством CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,573$, $p < 0,01$), концентрациями TNF α ($r = 0,662$, $p < 0,01$), sTNF-R1 ($r = 0,644$, $p < 0,01$) и их соотношением ($r = -0,384$, $p < 0,05$).

В клинической практике важен прогноз исхода заболевания к концу острого периода на момент поступления пациента в стационар, что позволяет заблаговременно планировать стратегию оказания медицинской помощи пациентам с ИИ в стационаре. Для выявления прогностически значимых показателей на разных сроках пребывания пациента с ИИ в стационаре проводили ретроспективную оценку, в рамках которой выполняли корреляционный анализ между показателями регулирующих апоптоз систем TNF α и Fas периферической крови при поступлении пациента с ИИ в стационар и через неделю пребывания в нем и уровнем неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода ИИ, т.е. на 21-е сутки (Таблица 4.3).

Таблица 4.3 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α на 1-е и 7-е сутки исследования и выраженности неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS на 21-е сутки

Показатели	Коэффициенты корреляции	
	1 сутки	7 сутки
sFas (пг/мл)	-0,054	0,265*
sFasL (пг/мл)	0,349**	0,615**
sFasL/sFas (д. ед.)	0,675**	0,674**
sFasL-эффективность (л/10 ⁹)	-0,019	0,473**
sTNF-R1 (пг/мл)	-0,032	0,286*
TNF α (пг/мл)	0,392**	0,371**
TNF α /sTNF-R1 (д. ед.)	0,524**	0,280*
CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,553**	-0,04

Положительный результат был получен для показателей: концентрация sFasL ($r = 0,349$, $p < 0,01$), соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = 0,675$, $p < 0,01$), абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,553$, $p < 0,01$), TNF α ($r = 0,392$, $p < 0,01$), соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = 0,524$, $p < 0,01$). Это значит, что выраженность неврологического дефицита, перенесших ИИ пациентов, в исходе острого периода может быть ориентировочно спрогнозирована при помощи определения вышеперечисленных показателей при их поступлении в стационар. Сходную ретроспективную оценку проводили и для степени функциональных нарушений на 21-е сутки, выраженных в баллах по шкалам Бартел и Рэнкина. Выявили, что для прогноза функционального состояния в исходе острого периода ИИ, выраженного в баллах шкалы Рэнкина, могут быть использованы следующие показатели, измеряемые при поступлении пациентов в стационар: концентрация sFasL ($r = 0,224$, $p < 0,01$), sFas ($r = 0,248$, $p < 0,01$), TNF α ($r = 0,319$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = 0,254$, $p < 0,01$); для индекса Бартел: концентрация sFasL ($r = -0,330$, $p < 0,01$), соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = -0,590$, $p < 0,01$), абсолютное содержание CD3CD95+ лимфоцитов ($r = -0,342$, $p < 0,01$), TNF α ($r = -0,604$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = -0,363$, $p < 0,01$), соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = -0,358$, $p < 0,01$).

Прогностическую значимость для уровня неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS, в исходе острого периода ИИ на 7-е сутки пребывания пациента в стационаре имели следующие показатели: концентрация sFasL ($r = 0,615$, $p < 0,01$), sFas ($r = 0,265$, $p < 0,05$), соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = 0,674$, $p < 0,01$), sFasL-эффективность ($r = 0,473$, $p < 0,01$), концентрации TNF α ($r = 0,371$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = 0,286$, $p < 0,05$), соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = 0,280$, $p < 0,05$). Те же показатели могут быть использованы и для прогноза функционального состояния в исходе острого периода ИИ, выраженного в баллах шкалы Рэнкина: концентрация sFasL ($r = 0,624$, $p < 0,01$), sFas ($r = 0,237$, $p < 0,05$), соотношение концентраций sFasL/sFas ($r = 0,711$, $p < 0,01$), sFasL-эффективность ($r = 0,492$, $p < 0,01$), концентрации TNF α ($r = 0,375$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = 0,281$, $p < 0,05$), соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = 0,295$, $p < 0,05$). Для индекса Бартел прослеживались те же зависимости за исключением соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1: для концентрации sFasL ($r = -0,631$, $p < 0,01$), sFas ($r = -0,325$, $p < 0,05$), соотношения концентраций sFasL/sFas ($r = -0,628$, $p < 0,01$), sFasL-эффективность ($r = -0,451$, $p < 0,01$), концентраций TNF α ($r = -0,465$, $p < 0,01$) и sTNF-R1 ($r = -0,367$, $p < 0,01$).

Прогностическое преимущество величины соотношения концентраций sFasL/sFas было также показано путем сравнения p -уровней отличий между подгруппами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ с разным граничным уровнем неврологического дефицита распределения для исследуемых параметров (Рисунок 3.13).

Во все сроки исследования выявляли перекрестные корреляционные связи между исследуемыми параметрами (Таблица 4.4).

Таблица 4.4 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (*p<0,05, **p<0,01) показателей регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α на указанные в таблице текущие сутки исследования

Сутки	Показатель 1	Показатель 2	В группе исследования	Исход острого периода ИИ	
				Благоприятный	Неблагоприятный
1	sFasL (пг/мл)	TNF α (пг/мл)	0,366**	0,302	0,162
7	sFasL (пг/мл)	TNF α (пг/мл)	0,196*	0,418*	-0,02
21	sFasL (пг/мл)	TNF α (пг/мл)	-0,093	0,24	-0,626**
1	sFasL (пг/мл)	sFas (пг/мл)	0,846**	0,887**	0,915**
7	sFasL (пг/мл)	sFas (пг/мл)	0,809**	0,893**	0,823**
21	sFasL (пг/мл)	sFas (пг/мл)	0,739**	0,862**	0,749**
1	TNF α (пг/мл)	sTNF-R1 (пг/мл)	0,706**	0,810**	0,656**
7	TNF α (пг/мл)	sTNF-R1 (пг/мл)	0,698**	0,739**	0,548**
21	TNF α (пг/мл)	sTNF-R1 (пг/мл)	0,746**	0,839**	0,611**
1	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	sFas (пг/мл)	0,215**	0,294	0,076
7	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	sFas (пг/мл)	-0,009	0,356*	-0,052
21	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	sFas (пг/мл)	0,081	0,064	0,009
1	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	TNF α (пг/мл)	0,458**	0,731**	0,189
7	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	TNF α (пг/мл)	0,266**	0,373*	0,273
21	CD3CD95+ лимфоциты (10 ⁹ /л)	TNF α (пг/мл)	-0,13	0,017	-0,158

При поступлении пациентов в стационар в общей выборке достоверно коррелировали значения следующих параметров: концентрации sFasL и TNF α ($r= 0,366$, $p<0,01$), sFasL и sFas ($r= 0,846$, $p<0,01$), концентрация sFas и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,215$, $p<0,01$), sFasL и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,389$, $p<0,01$), TNF α и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,458$, $p<0,01$), концентрации TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,706$, $p<0,01$). Через неделю после развития ИИ достоверные коэффициенты корреляции были получены для следующих параметров: концентрации sFasL и TNF α ($r= 0,196$, $p<0,05$), sFas и sTNF-R1 ($r= 0,274$, $p<0,01$), sFasL и sFas ($r= 0,809$, $p<0,01$), концентрация sFasL и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= -0,238$, $p<0,05$), TNF α и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,266$, $p<0,01$), концентрации TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,698$, $p<0,01$). В завершении острого периода ИИ (на 21 сутки исследования) в общей выборке количество достоверных корреляций было значительно меньше. Достоверно коррелировали значения следующих параметров: концентрации sFasL и sFas ($r= 0,739$, $p<0,01$), концентрация sFasL и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,326$, $p<0,05$), концентрации TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,746$, $p<0,01$). Учитывая наличие достоверных корреляционных связей между рядом изучаемых параметров систем Fas и TNF α , возможна их взаимозаменяемость и перекрестное прогнозирование.

При распределении пациентов группы исследования на подгруппы по уровню неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ получили следующие результаты. При благоприятном исходе острого периода ИИ на 1-е сутки после сосудистой катастрофы достоверно коррелировали показатели концентраций sFasL и sFas ($r= 0,887$, $p<0,01$), TNF α и sTNF-R1 ($r= 0,810$, $p<0,01$), TNF α и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r= 0,731$, $p<0,01$); на 7 сутки - концентрации sFasL и TNF α ($r= 0,418$, $p<0,05$), sFas и sTNF-R1 ($r= 0,524$, $p<0,01$), sFasL и sFas ($r= 0,893$, $p<0,01$), TNF α и

sTNF-R1 ($r = 0,739$, $p < 0,01$), sFas и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,356$, $p < 0,05$), sFasL и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,350$, $p < 0,05$), TNF α и абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов ($r = 0,373$, $p < 0,05$); в исходе острого периода ИИ - концентрации sFasL и sFas ($r = 0,862$, $p < 0,01$), концентрации TNF α и sTNF-R1 ($r = 0,839$, $p < 0,01$). В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ концентрации sFasL и sFas, TNF α и sTNF-R1 достоверно коррелировали во все сроки исследования (на 1-е сутки соответственно $r = 0,915$ и $r = 0,656$, на 7-е - $r = 0,823$ и $r = 0,548$, на 21 - $r = 0,749$ и $r = 0,611$, $p < 0,01$), также была выявлена достоверная связь между концентрациями sFasL и TNF α на 21-е сутки исследования ($r = -0,626$, $p < 0,05$).

Таким образом, в остром периоде ИИ уровень неврологического дефицита во все сроки исследования имеет достоверные закономерные корреляционные связи с показателями систем Fas и TNF α .

Темп изменения уровня неврологического дефицита наиболее сильные корреляционные связи имеет с показателями системы TNF α и абсолютным содержанием CD3CD95 позитивных лимфоцитов.

Наибольшую прогностическую значимость для уровня неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ при поступлении пациента в стационар имеет величина соотношения концентраций sFasL/sFas.

Наиболее сильные корреляционные связи между изучаемыми показателями систем Fas и TNF α характерны в первые сутки после развития ИИ. Учитывая наличие достоверных корреляционных связей между рядом изучаемых параметров систем Fas и TNF α , возможна их взаимозаменяемость и перекрестное прогнозирование.

В целом, результаты статистического анализа полученных фактических данных дает основание заключить, что в остром периоде ИИ закономерности апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных взаимодействий систем Fas и TNF α существенно влияют на его течение и исход. Ряд показателей (sFasL, соотношение концентраций sFasL/sFas, абсолютное содержание CD3CD95

позитивных лимфоцитов, $\text{TNF}\alpha$, соотношение концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1) могут быть использованы как прогностические маркеры исхода острого периода ИИ при поступлении пациента в стационар уже в 1-е сутки после развития сосудистой катастрофы. Среди них наибольшей прогностической значимостью обладает показатель соотношения концентраций sFasL/sFas [89, 93, 94, 106, 108].

Глава 5 Закономерности динамики содержания гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 в периферической крови, а также выраженности стресса, тревоги, депрессии у пациентов в остром периоде ишемического инсульта

5.1 Динамика содержания в крови гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 у пациентов после ишемического инсульта

При исследовании концентрации АКТГ в периферической крови пациентов после ИИ выявлено достоверное ее увеличение во все сроки исследования относительно группы контроля ($p < 0,01$). Так, в группе контроля концентрация АКТГ составила $7,91 \pm 1,88$ пг/мл, группе исследования на 1-е сутки - $15,60 \pm 6,40$ пг/мл, на 7-е сутки - $10,93 \pm 3,98$ пг/мл, на 21-е сутки - $9,20 \pm 2,63$ пг/мл. (Рисунок 5.1).

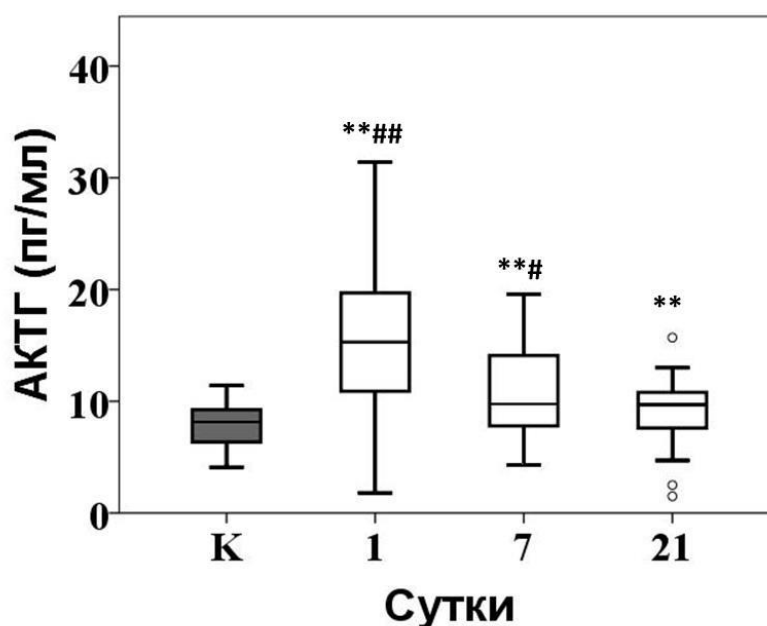


Рисунок 5.1 Концентрация АКТГ в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), * - р-уровень отличия данных от контроля ($*p < 0,05$, $**p < 0,01$), # - р-уровень отличия данных от данных на следующие сутки исследования ($\#p < 0,05$, $\#\#p < 0,01$)

При этом отмечалось достоверное снижение показателя в каждый последующий срок исследования: на 7-е сутки относительно первых ($p < 0,01$) и на 21-е относительно седьмых ($p < 0,05$)

Концентрация кортизола в периферической крови пациентов после ИИ была достоверно повышена во все сроки исследования по сравнению с контрольной группой ($246,99 \pm 45,68$ нмоль/л) ($p < 0,01$). На 1-е сутки уровень кортизола в группе исследования был равен $507,90 \pm 134,93$ нмоль/л, к 7-м суткам происходило достоверное его снижение - $339,09 \pm 84,34$ нмоль/л, а к 21-м достоверных изменений выявлено не было - $368,54 \pm 93,03$ нмоль/л (Рисунок 5.2).

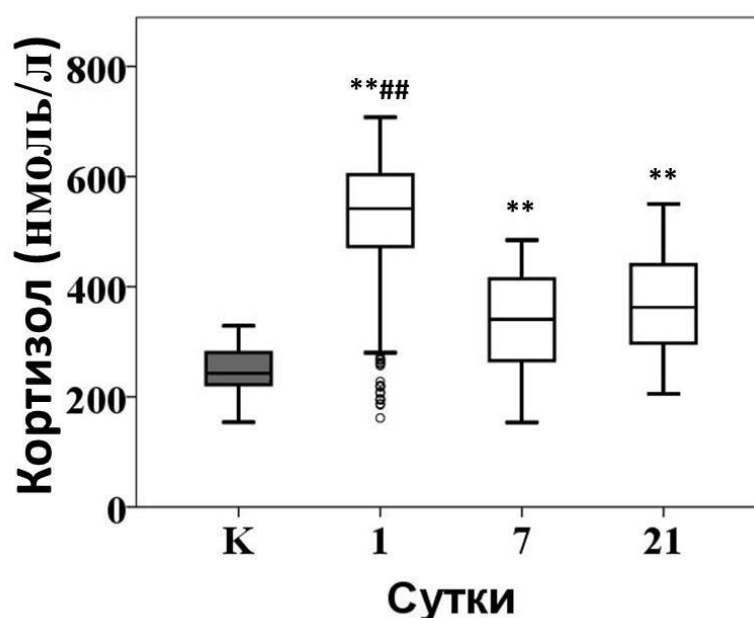


Рисунок 5.2 Концентрация кортизола в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (нмоль/л), остальные обозначения, как на рисунке 5.1

Концентрация адреналина в группе контроля составила $62,05 \pm 27,66$ пг/мл, что достоверно ниже, чем в группе исследования лишь на 7-е сутки ($101,75 \pm 27,99$ пг/мл, $p < 0,01$), на 1-е сутки она была равна $71,92 \pm 26,64$ пг/мл, на 21 сутки - $62,98 \pm 26,68$ пг/мл (Рисунок 5.3).

Уровень норадреналина от контрольного значения $126,99 \pm 14,51$ пг/мл достоверно отличался на 7-е ($142,62 \pm 43,01$ пг/мл) и 21-е ($144,18 \pm 41,53$ пг/мл) сутки исследования ($p < 0,05$). На 1-е ($125,44 \pm 41,72$ пг/мл)

достоверных отличий от контроля не было. При этом к 7-м суткам после ИИ прослеживался достоверный рост показателя ($p<0,01$) (Рисунок 5.4).

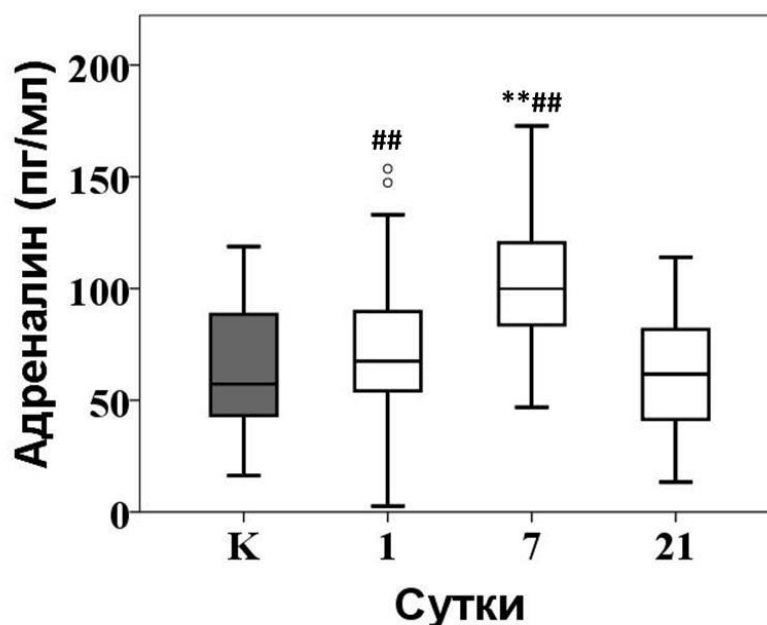


Рисунок 5.3 Концентрация адреналина в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 5.1

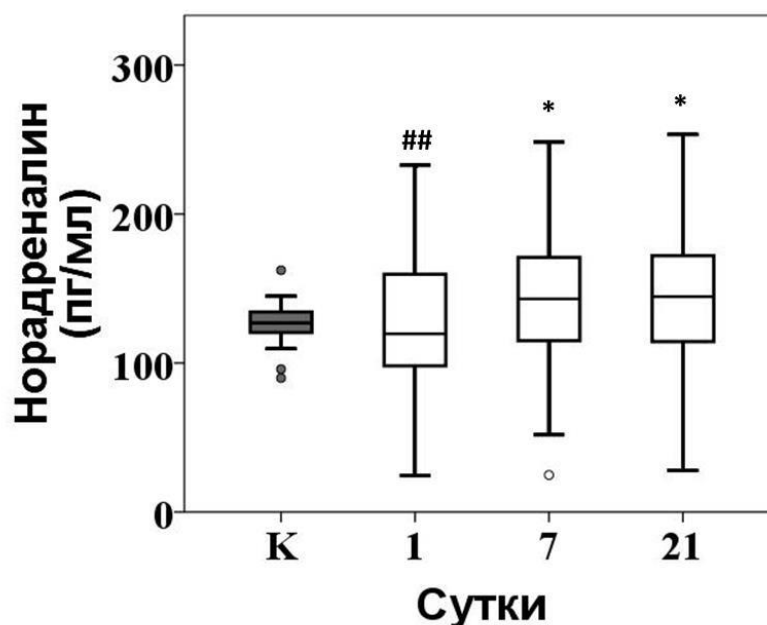


Рисунок 5.4 Концентрация норадреналина в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 5.1

Концентрация ИЛ-6 в периферической крови пациентов после ИИ была достоверно повышена относительно группы контроля ($4,22 \pm 1,12$ пг/мл) во

все сроки исследования ($p < 0,01$) и была равна $11,15 \pm 4,25$, $21,62 \pm 11,05$, $13,97 \pm 7,32$ пг/мл, соответственно, на 1, 7 и 21-е сутки. Максимальное значение показателя приходилось на 7-е сутки исследования, когда оно было достоверно больше чем на 1-е и 21-е ($p < 0,01$) (Рисунок 5.5).

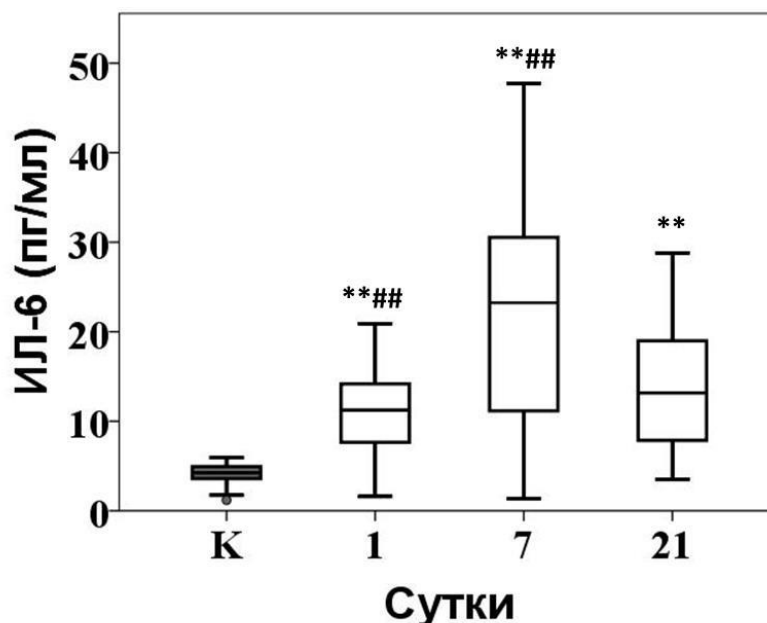


Рисунок 5.5 Концентрация интерлейкина-6 в периферической крови у пациентов после ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 5.1

Таким образом, на 1-е сутки исследования в периферической крови относительно контрольных значений были увеличены концентрации АКТГ, кортизола и ИЛ-6, к 7-м суткам также относительно контрольных значений отмечалось увеличение концентрации адреналина и норадреналина. В исходе острого периода ИИ все показатели, кроме концентрации адреналина оставались выше контрольных значений, не выходя при этом за рамки референтных. При разделении пациентов с ИИ на подгруппы по его патогенетическому варианту выявлено, что на 1-е сутки после манифестации ИИ максимальная концентрация в периферической крови АКТГ, кортизола и ИЛ-6 (соответственно, $19,67 \pm 5,71$ пг/мл и $611,53 \pm 40,10$ нмоль/л, $13,76 \pm 3,63$ пг/мл) была у пациентов с атеротромботическим ИИ, а адреналина и норадреналина - с лакунарным (соответственно, $76,40 \pm 21,06$ и $150,22 \pm 33,30$ пг/мл) (Таблица 5.1).

Минимальное содержание на этом сроке исследования АКТГ, кортизола и ИЛ-6 (соответственно, $7,42 \pm 2,17$ пг/мл, $247,15 \pm 49,96$ нмоль/л и $6,72 \pm 1,40$ пг/мл) было у пациентов с лакунарным по сравнению с остальными патогенетическими вариантами ИИ, адреналина – с кардиоэмболическим ($61,16 \pm 31,00$ пг/мл), норадреналина – с подтипом ИИ неустановленной этиологии ($110,57 \pm 30,30$ пг/мл). На 7-е сутки наибольшие значения концентраций АКТГ, адреналина и ИЛ-6 были выявлены у пациентов с атеротромботическим ИИ (соответственно, $13,51 \pm 4,00$ пг/мл и $116,09 \pm 23,34$ пг/мл, $27,84 \pm 8,42$ пг/мл), кортизола ($394,19 \pm 81,51$ нмоль/л) – с кардиоэмболическим подтипом ИИ, норадреналина ($150,34 \pm 41,65$ пг/мл) – с неустановленной этиологией. Наименьшие концентрации АКТГ и норадреналина на этом сроке исследования были у пациентов с кардиоэмболическим ИИ (соответственно, $8,21 \pm 1,96$ и $132,76 \pm 42,50$ пг/мл), а кортизола, адреналина и ИЛ-6 – с лакунарным (соответственно, $242,03 \pm 42,17$ нмоль/л, $81,98 \pm 25,68$ пг/мл и $6,79 \pm 2,12$ пг/мл). В конце острого периода ИИ (на 21-е сутки исследования) наибольших значений концентрация АКТГ, адреналина и норадреналина достигала у пациентов с неустановленной этиологией ИИ (соответственно, $9,56 \pm 2,32$ пг/мл, $71,58 \pm 27,52$ пг/мл и $153,52 \pm 68,55$ пг/мл), кортизола ($396,76 \pm 44,19$ нмоль/л) – с лакунарным, а ИЛ-6 ($17,24 \pm 7,90$ пг/мл) – с атеротромботическим. Минимальные концентрации АКТГ и норадреналина были выявлены в периферической крови пациентов с атеротромботическим патогенетическим подтипом ИИ (соответственно, $8,81 \pm 3,08$ пг/мл и $137,37 \pm 36,46$ пг/мл), кортизола – с кардиоэмболическим ($327,60 \pm 48,09$ нмоль/л), адреналина и ИЛ-6 – с лакунарным (соответственно, $55,94 \pm 23,91$ и $7,00 \pm 2,09$ пг/мл) (Таблица 5.1).

Таким образом, в подгруппах, выделенных по патогенетическому варианту ИИ, выявлены различия, как по значениям исследуемых показателей, так и по их динамике.

Таблица 5.1 Концентрации гормонов стресс-реализующей системы и интерлейкина-6 в периферической крови у пациентов после ИИ разных патогенетических подтипов по критериям TOAST на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К)

Параметр (размер- ность)	Сутки	Группа Контроля	Тип инсульта			
			Атеро- тромботический	Кардио- эмболический	Лакунарный	Неуточненный
А (пг/мл)	1	62,05 ± 27,66	74,51 ± 27,48##	61,16 ± 31,00#	76,40 ± 21,06*	72,68 ± 23,05##
	7		116,09 ± 23,34***##	86,45 ± 24,93*	81,98 ± 25,68***##	96,19 ± 24,43***#
	21		62,84 ± 27,32	66,59 ± 29,51	55,94 ± 23,91	71,58 ± 27,52
НА (пг/мл)	1	126,99 ± 14,51	112,48 ± 42,81##	149,13 ± 37,25*	150,22 ± 33,30**	110,57 ± 30,30***##
	7		144,21 ± 40,30	132,76 ± 42,50	137,52 ± 51,78	150,34 ± 41,65*
	21		137,37 ± 36,46	145,20 ± 32,41	150,68 ± 36,70	153,52 ± 68,55*
АКТГ (пг/мл)	1	7,91 ± 1,88	19,67 ± 5,71***##	15,92 ± 3,13***##	7,42 ± 2,17#	13,57 ± 4,88***##
	7		13,51 ± 4,00***##	8,21 ± 1,96	8,92 ± 1,83*	8,35 ± 2,00
	21		8,81 ± 3,08	9,54 ± 1,80*	9,53 ± 2,43*	9,56 ± 2,32*
К (нмоль/л)	1	246,99 ± 45,68	611,53 ± 40,10***##	524,41 ± 36,20***##	247,15 ± 49,96	491,08 ± 47,59***##
	7		360,55 ± 64,58**	394,19 ± 81,51***#	242,03 ± 42,17##	346,29 ± 89,72**
	21		378,56 ± 124,60**	327,60 ± 48,09**	396,76 ± 44,19**	331,24 ± 38,60**
ИЛ-6 (пг/мл)	1	4,22 ± 1,12	13,76 ± 3,63***##	11,43 ± 3,06***##	6,72 ± 1,40**	9,13 ± 3,94***##
	7		27,84 ± 8,42***##	24,72 ± 7,12***##	6,79 ± 2,12**	18,98 ± 9,43**
	21		17,24 ± 7,90**	14,35 ± 3,44**	7,00 ± 2,09**	15,00 ± 6,43**

Наличие факторов сердечно-сосудистого риска оказывало существенное влияние на концентрацию АКТГ в периферической крови пациентов после ИИ. Так, различия по значению указанного показателя между подгруппами пациентов с наличием и отсутствием рассматриваемого фактора риска были достоверными на 1-е сутки для артериальной гипертензии ($p<0,05$), гиперхолестеринэмии ($p<0,01$), сахарного диабета ($p<0,01$), ИБС ($p<0,01$); на 7-е сутки для гиперхолестеринэмии ($p<0,05$), сахарного диабета ($p<0,05$), ИБС ($p<0,01$); на 21-е для курения ($p<0,05$). Концентрация кортизола зависела на 1-е сутки от наличия гиперхолестеринэмии ($p<0,01$), сахарного диабета ($p<0,05$), ИБС ($p<0,01$); на 7-е сутки от сахарного диабета ($p<0,05$) и ИБС ($p<0,01$), на 21-е сутки достоверных различий между подгруппами пациентов с наличием и отсутствием рассматриваемого фактора риска по концентрации кортизола не было. На уровень адреналина в периферической крови после ИИ оказывало влияние наличие следующих факторов риска: на 1-е сутки – ИБС ($p<0,01$), мерцательная аритмия ($p<0,01$); на 7-е – гиперхолестеринэмия ($p<0,01$) и ИБС ($p<0,01$). На концентрацию норадреналина наличие у пациентов факторов сердечно-сосудистого риска влияло лишь на 1-е сутки после ИИ (гиперхолестеринэмия ($p<0,01$), ИБС ($p<0,05$) и мерцательная аритмия ($p<0,05$)). Для концентрации ИЛ-6 значимыми были на 1-е сутки артериальная гипертензия ($p<0,05$), гиперхолестеринэмия ($p<0,01$), ИБС ($p<0,01$), на 7-е – гиперхолестеринэмия ($p<0,01$), сахарный диабет ($p<0,05$), ИБС ($p<0,01$), на 21-е – гиперхолестеринэмия ($p<0,05$), ИБС ($p<0,01$).

Таким образом, наличие факторов сердечно-сосудистого риска у пациентов с ИИ оказывает влияние на уровень АКТГ и ИЛ-6 во все сроки исследования, а на остальные гормоны стресс-реализующей системы лишь в первую неделю после его развития.

Достоверных различий у пациентов с лево- и правосторонней локализацией очага, а также у мужчин и женщин в содержании в

периферической крови АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина, ИЛ-6 во все сроки исследования выявлено не было (Таблица 5.4).

При анализе концентраций гормонов стресс-реализующей системы в периферической крови у пациентов с учетом их принадлежности к подгруппе с благоприятным или неблагоприятным исходами острого периода ИИ, были выявлены следующие закономерности. В 1-е сутки ИИ у пациентов из подгруппы благоприятного исхода уровень гормонов симпато-адреналовой системы в периферической крови был достоверно выше (концентрации адреналина и норадреналина составили соответственно $90,71 \pm 28,68$ и $138,80 \pm 43,96$ пг/мл), чем у пациентов из подгруппы неблагоприятного исхода (соответственно, $58,00 \pm 21,04$ и $120,42 \pm 38,28$ пг/мл) (соответственно, $p < 0,01$ и $p < 0,05$) (Рисунок 5.6, Рисунок 5.7).

При этом концентрация кортизола была достоверно ($p < 0,01$) выше в подгруппе неблагоприятного исхода ($568,23 \pm 59,48$ нмоль/л) по сравнению с благоприятным ($419,91 \pm 163,37$ нмоль/л) (Рисунок 5.8), равно как концентрации АКТГ (соответственно, $18,61 \pm 5,26$ и $11,10 \pm 4,22$ пг/мл, $p < 0,01$) (Рисунок 5.9) и ИЛ-6 (соответственно, $12,38 \pm 3,79$ и $10,51 \pm 4,71$ пг/мл, $p < 0,05$) (Рисунок 5.10).

Эта закономерность сохранялась на протяжении всего острого периода ИИ для кортизола (подгруппы неблагоприятного и благоприятного исхода на 7-е сутки $409,17 \pm 44,09$ и $274,22 \pm 50,36$ нмоль/л и на 21-е сутки) и ИЛ-6 (соответственно, $18,61 \pm 5,26$ и $11,10 \pm 4,22$ пг/мл на 7-е сутки, $412,77 \pm 98,28$ и $337,82 \pm 76,45$ пг/мл на 21-е) ($p < 0,01$).

Для АКТГ вышеописанная закономерность соблюдалась только на 7-е сутки (соответственно, $12,36 \pm 4,24$ и $8,97 \pm 2,60$ пг/мл, $p < 0,01$), на 21-е достоверных отличий между подгруппами не выявлялось (соответственно, $8,84 \pm 3,16$ и $9,46 \pm 2,20$ пг/мл, $p > 0,05$). На 7-е и 21-е сутки достоверных различий между рассматриваемыми подгруппами в значениях концентраций адреналина и норадреналина выявлено не было.

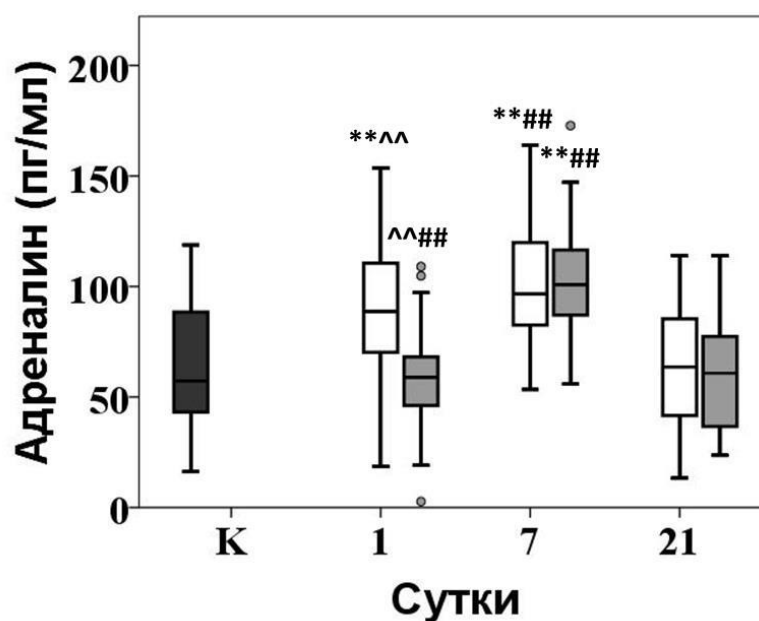


Рисунок 5.6 Концентрация адреналина у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), * - р-уровень отличия данных от контроля (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$), # - р-уровень отличия данных от данных на следующие сутки исследования (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$), ^- р-уровень отличия данных между подгруппами (^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,01$)

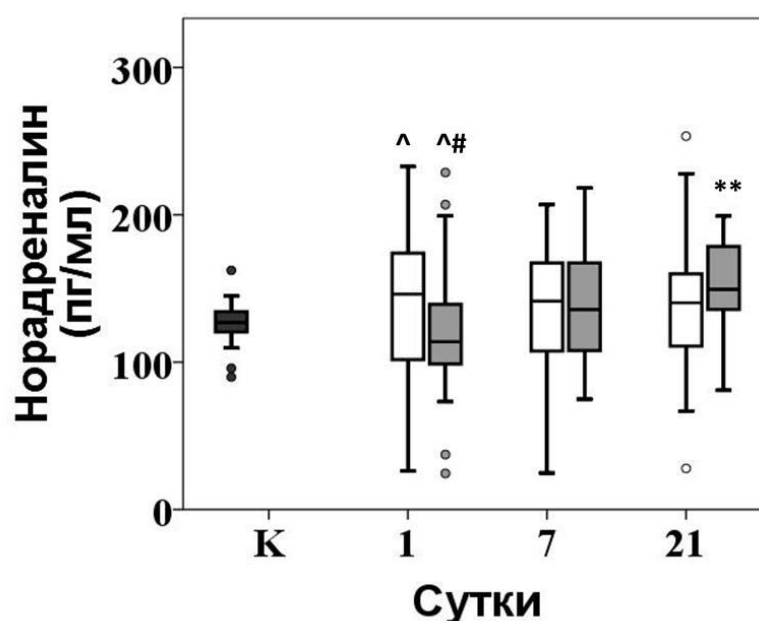


Рисунок 5.7 Концентрация норадреналина у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

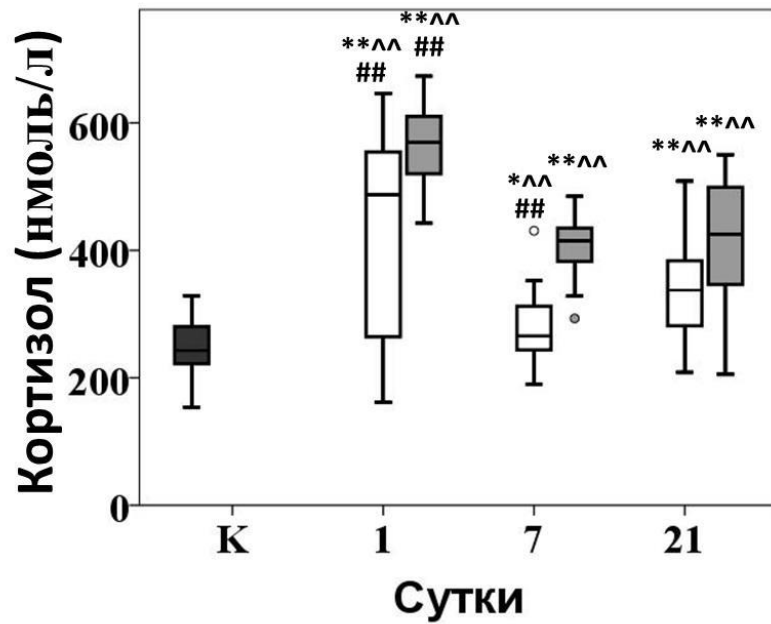


Рисунок 5.8 Концентрация кортизола у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (нмоль/л), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

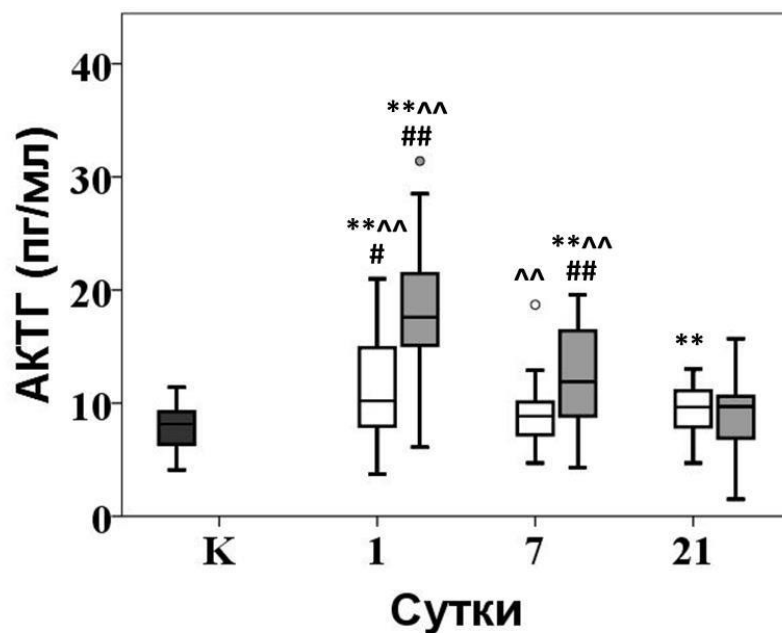


Рисунок 5.9 Концентрация АКТГ у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

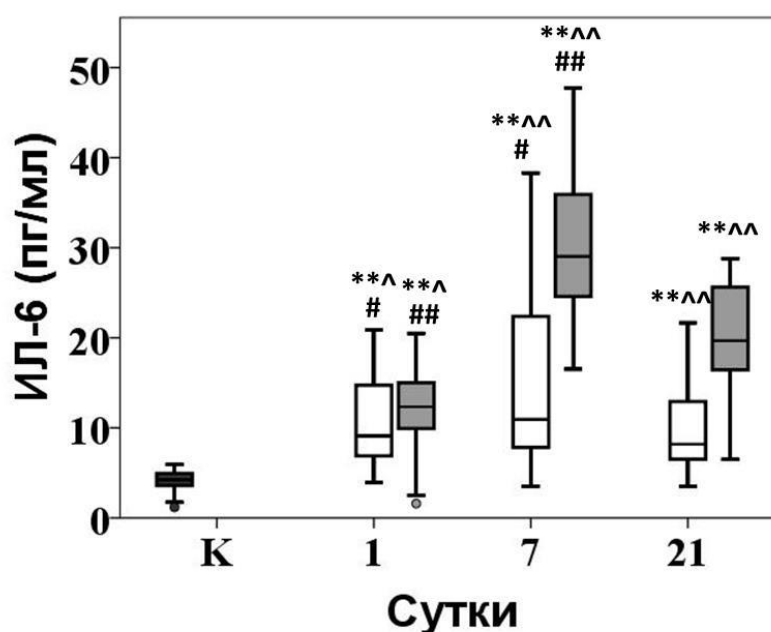


Рисунок 5.10 Концентрация ИЛ-6 у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К) (пг/мл)

В подгруппе благоприятного исхода уровень адреналина в периферической крови пациентов составлял, соответственно, на 7-е и 21-е сутки, $100,60 \pm 26,61$ и $63,73 \pm 27,03$ пг/мл и норадреналина - $137,53 \pm 42,07$ и $139,98 \pm 46,14$ пг/мл. В подгруппе неблагоприятного исхода концентрация адреналина была равна, соответственно, $102,93 \pm 25,69$ и $61,91 \pm 26,68$ пг/мл, норадреналина - $139,64 \pm 39,43$ и $150,22 \pm 33,80$ пг/мл.

При анализе динамики концентрации основных нейрогуморальных эффекторов стресс-реализующих систем в периферической крови пациентов подгрупп благоприятного и неблагоприятного исхода были выявлены следующие закономерности. Динамика концентрации АКТГ схожа в рассматриваемых подгруппах и повторяет закономерности динамики в общей выборке без их выделения.

Однако при неблагоприятном исходе происходило достоверное снижение показателя во всех рассматриваемых временных интервалах ($p < 0,01$), а при благоприятном только в первую неделю ($p < 0,05$). Концентрация кортизола к 7-м суткам достоверно снижалась в обеих

подгруппах ($p < 0,01$), затем к концу острого периода ИИ у пациентов из подгруппы благоприятного исхода отмечался ее достоверный рост ($p < 0,01$). В подгруппе неблагоприятного исхода этот рост был недостоверный.

Концентрация ИЛ-6 достигала максимальных значений в обеих подгруппах на 7-е сутки, ее изменения были достоверны на всех сроках исследования, как для подгруппы благоприятного исхода ($p < 0,05$), так и неблагоприятного ($p < 0,01$). Концентрация норадреналина не имела достоверной динамики в группе благоприятного исхода острого периода ИИ, при неблагоприятном исходе прослеживалось ее достоверное увеличение к концу первой недели ИИ ($p < 0,05$). Максимальная концентрация адреналина имела место на 7-е сутки исследования, затем в обеих подгруппах происходило ее достоверное снижение ($p < 0,01$), что повторяло закономерности общей выборки.

Таким образом, в 1-е сутки ИИ у пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ уровень гормонов симпато-адреналовой системы в периферической крови выше, а кортизола, ИЛ-6 и АКТГ ниже, чем у пациентов с неблагоприятным. В последующие сроки наблюдения различия по значениям концентраций адреналина и норадреналина нивелируются, а различия по значениям концентраций кортизола и ИЛ-6 остаются достоверными.

В целом, на 1-е сутки развития ИИ в периферической крови относительно контрольных значений были увеличены концентрации АКТГ, кортизола и ИЛ-6; при этом у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше 5, они достоверно выше.

Наличие факторов сердечно-сосудистого риска оказывало влияние на уровень АКТГ и ИЛ-6 во все сроки исследования, а на концентрацию кортизола, адреналина и норадреналина лишь в первую неделю после развития сосудистой катастрофы.

Достоверного роста концентраций гормонов симпато-адреналовой системы в первые сутки ИИ в общей группе исследования не происходило. Однако у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода был меньше 5, их концентрации были достоверно выше.

Приведенные выше фактические данные дают основания заключить, что уже в остром периоде ИИ формируются вполне определенные закономерности динамики содержания в периферической крови гормонов стресс-реализующей системы и ее значимого модулятора интерлейкина-6. Они заключаются в быстрой и преимущественной активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. При этом у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, на первые сутки ИИ концентрации гормонов симпато-адреналовой системы достоверно меньше, чем у пациентов с более высоким уровнем неврологического дефицита [100].

5.2 Динамика клинических показателей, отражающих уровень стресса, тревоги и депрессии у пациентов после ишемического инсульта

С целью определения уровня психоэмоционального стресса на 7-е и 21-е сутки пребывания пациентов с ИИ в стационаре и однократно в группе контроля использовали опросник Reeder (Daily Life Stress scale) [143, 492]. Выявлено, что чем выше балл по этому опроснику, тем ниже уровень повседневного психологического стресса у респондента.

В группе контроля математическое ожидание количества баллов по опроснику Reeder составило $3,34 \pm 0,53$, что соответствовало низкому уровню стресса и достоверно ($p < 0,01$) отличалось от группы исследования на 7-е сутки наблюдения ($2,19 \pm 0,98$, что соответствует среднему уровню стресса) и на 21-е сутки ($1,84 \pm 0,51$, высокий уровень стресса). Таким образом, за время пребывания в стационаре пациентов с ИИ уровень психологического стресса у них повышался (Рисунок 5.11). При этом в подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ динамика нарастания

уровня психологического стресса была более выраженной ($p < 0,01$) с $2,75 \pm 1,00$ до $1,84 \pm 0,55$, а в подгруппе с неблагоприятным исходом ИИ происходило недостоверное снижение его уровня с $1,67 \pm 0,64$ до $1,84 \pm 0,44$ ($p > 0,05$) (Рисунок 5.12).

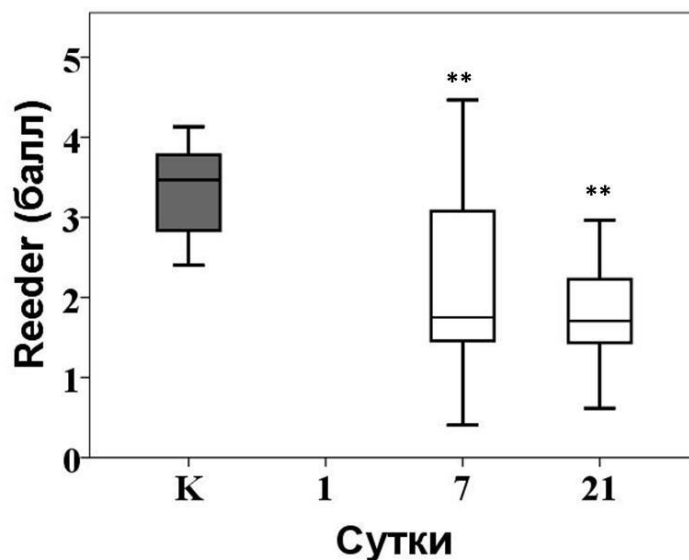


Рисунок 5.11 Уровень психоэмоционального стресса в баллах по опроснику Reeder (Daily Life Stress scale) у пациентов с ИИ на 7-е и 21-е сутки их пребывания в стационаре и в группе контроля (К)

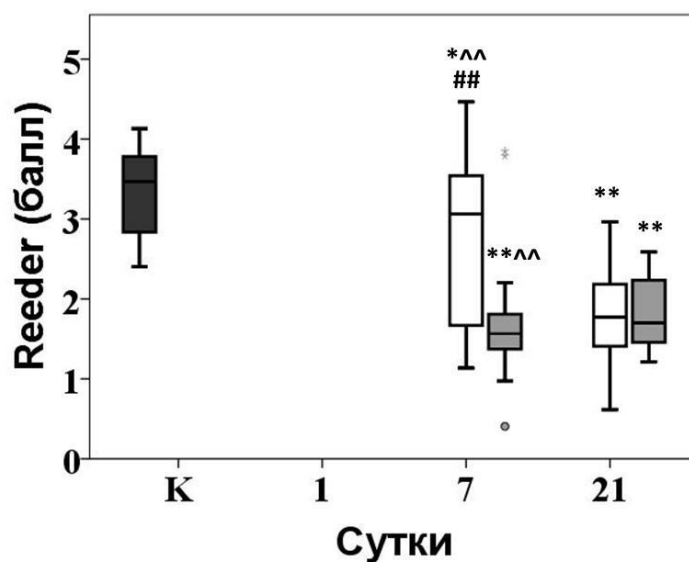


Рисунок 5.12 Уровень психоэмоционального стресса в баллах по опроснику Reeder (Daily Life Stress scale) на 7-е и 21-е сутки исследования у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

При лакунарном патогенетическом подтипе ИИ уровень психологического стресса был наиболее приближен к показателю группы контроля и составил $2,32 \pm 0,91$ и $2,16 \pm 0,47$ соответственно на 7-е и 21-е сутки, но при этом отличия от группы контроля были достоверными во все сроки ($p < 0,01$) (Таблица 5.2).

Таблица 5.2 Динамика клинических показателей, отражающих уровень стресса, тревоги и депрессии у пациентов после ИИ разных патогенетических подтипов по критериям TOAST на 7-е и 21-е сутки и в группе контроля (К)

Параметр	Сутки	Группа Контроля	Тип инсульта			
			Атеро- тромботический	Кардио- эмболический	Лакунарный	Неуточненный
Reeder	7	3,34 ± 0,53	2,21 ± 1,01**	1,69 ± 0,87**	2,32 ± 0,91**	2,34 ± 1,02**#
	21		1,83 ± 0,48**	1,59 ± 0,57**	2,16 ± 0,47**	1,55 ± 0,31**
HADS T	7	6,18 ± 2,31	12,85 ± 2,46**#	10,14 ± 3,16**	8,14 ± 4,05	11,90 ± 3,51**
	21		11,32 ± 3,36**	11,33 ± 2,50**	9,27 ± 2,25**	11,56 ± 1,74**
HADS Д	7	5,39 ± 2,39	13,83 ± 3,75**#	11,64 ± 4,63**	6,00 ± 3,86	11,57 ± 6,05**
	21		11,89 ± 4,27**	11,89 ± 4,88**	7,27 ± 3,92	12,00 ± 4,39**

Наибольший уровень стресса был характерен для пациентов с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом ИИ - $1,69 \pm 0,87$ на 7-е и $1,59 \pm 0,57$ на 21-е сутки исследования. У пациентов с неустановленной этиологией ИИ наблюдалось достоверное снижение уровня баллов по опроснику Reeder с $2,34 \pm 1,02$ на 7-е сутки до $1,55 \pm 0,31$ на 21-е ($p < 0,05$), что соответствовало увеличению уровня психологического стресса у них со среднего до высокого уровня за этот временной интервал.

У пациентов с атеротромботическим подтипом ИИ достоверных изменений показателя не отмечалось, однако на 7-е сутки математическое ожидание количества баллов по этому опроснику ($2,21 \pm 1,01$) соответствовало среднему уровню, а на 21-е уже высокому ($1,83 \pm 0,48$) психологического стресса.

Наличие факторов сердечно-сосудистого риска не оказывало достоверного влияния на уровень стресса после ИИ. Пол пациентов не влиял на количество баллов по опроснику Reeder ни в группе контроля, ни в группе исследования. При этом пациенты с ИИ в бассейне ЛСМА на 21 сутки исследования имели достоверно меньший уровень психологического стресса ($2,04 \pm 0,55$) по сравнению с пациентами, перенесшими ИИ в бассейне ПСМА ($1,71 \pm 0,44$) ($p < 0,05$) (Таблица 5.4).

Экспресс оценку тяжести депрессии и тревоги на 7 и 21 сутки пребывания пациентов с ИИ в стационаре и однократно в группе контроля проводили с использованием Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) [655].

Во все сроки исследования этих показателей уровень тревоги и депрессии был достоверно выше ($p < 0,01$) у пациентов после ИИ, чем в группе контроля ($6,18 \pm 2,31$ и $5,39 \pm 2,39$ соответственно для тревоги и депрессии). Так, на 7-е сутки после ИИ математическое ожидание по шкале HADS соответствовало клинически и субклинически выраженной тревоге $11,40 \pm 3,58$ и клинически и субклинически выраженной депрессии $11,58 \pm$

5,24; на 21-е сутки – субклиническим тревого (10,85 ± 2,89) и депрессии (10,77 ± 4,65) (Рисунок 5.13).

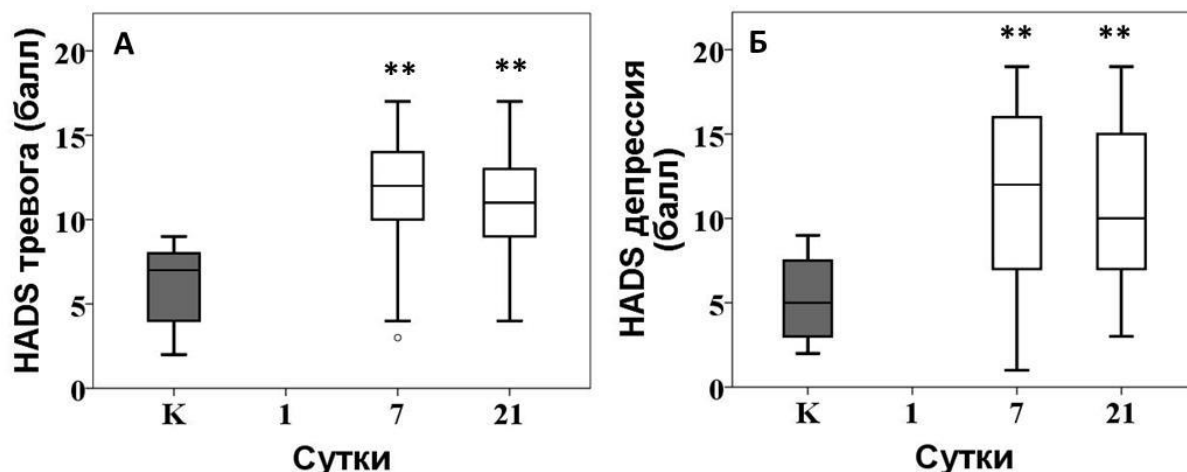


Рисунок 5.13 Уровень тревоги (А) и депрессии (Б) в баллах Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) на 7-е и 21-е сутки пребывания пациентов с ИИ в стационаре и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

Достоверные различия по этим показателям выявлены во все сроки исследования между подгруппами с благоприятным и неблагоприятным исходами острого периода ИИ ($p < 0,01$). Так на 7-е и 21-е сутки в подгруппе пациентов с благоприятным исходом балл по шкале HADS соответствовал субклиническим проявлениям тревоги (соответственно $10,08 \pm 3,82$, $9,33 \pm 2,48$) и депрессии ($8,50 \pm 4,07$, $7,69 \pm 2,96$), в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом - клинически выраженным тревого ($12,67 \pm 2,72$ и $13,04 \pm 1,84$) и депрессии ($15,39 \pm 3,47$ и $15,20 \pm 2,58$) (Рисунок 5.14, Рисунок 5.15). В динамике показателей достоверно значимых закономерностей не отмечено, однако наблюдалась тенденция снижения выраженности тревоги и депрессии с течением времени у пациентов с благоприятным и отсутствие динамики у пациентов с неблагоприятным исходом ИИ.

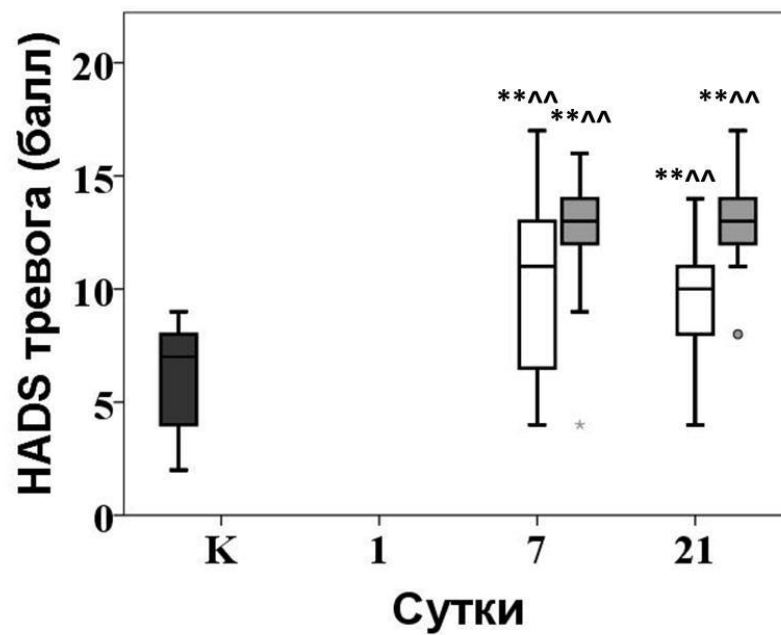


Рисунок 5.14 Уровень тревоги в баллах Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 7-е и 21-е сутки и в группе контроля (К)

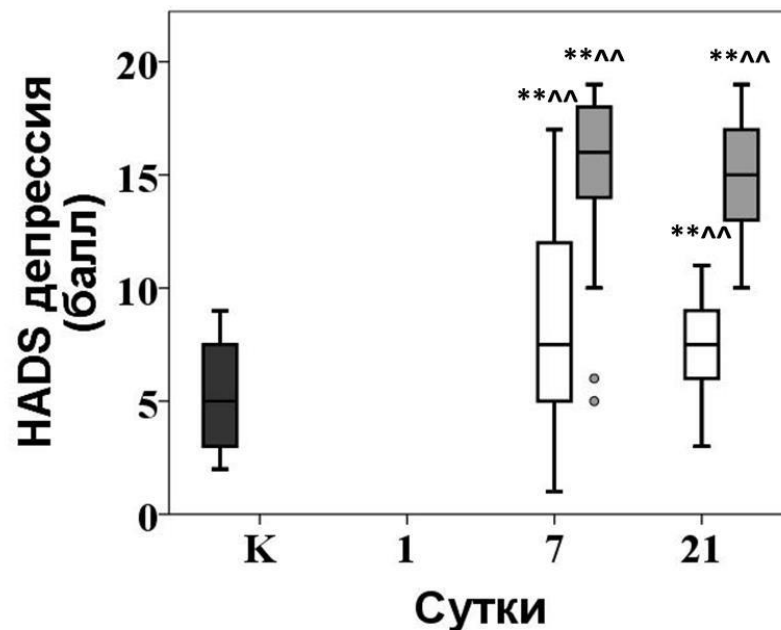


Рисунок 5.15 Уровень депрессии в баллах Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) у пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 7-е и 21-е сутки и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

Пол пациентов и локализация очага ИИ не оказывали достоверного влияния на уровни депрессии и тревоги по шкале HADS.

Выраженность тревоги и депрессии была достоверно выше у пациентов со следующими факторами сердечно-сосудистого риска. Пациенты, страдающие ИБС, во все сроки исследования имели достоверно более высокий уровень тревоги и депрессии ($p < 0,05$ для уровня депрессии на 21-е сутки и $p < 0,01$ для остальных случаев). Наличие гиперхолестеринемии оказывало влияние на выраженность тревоги ($p < 0,05$) и депрессии ($p < 0,01$) лишь на 7 сутки исследования. У пациентов с сахарным диабетом уровень тревоги был выше во все сроки исследования ($p < 0,01$ на 7-е и $p < 0,05$ на 21-е), а уровень депрессии лишь на 7-е ($p < 0,01$). Другие регистрировавшиеся в исследовании факторы сердечно-сосудистого риска не приводили к достоверным различиям уровня депрессии и тревоги между подгруппами пациентов, выделенных по факту их наличия и отсутствия.

Лишь у пациентов с атеротромботическим патогенетическим подтипом ИИ выявлена достоверная динамика исследуемых показателей. Уровень тревоги снижался с максимальных, относительно других патогенетических вариантов, значений с $12,85 \pm 2,46$ до $11,32 \pm 3,36$ ($p < 0,05$), равно как и уровень депрессии с $13,83 \pm 3,75$ до $11,89 \pm 4,27$ ($p < 0,05$). Во всех остальных случаях имела место тенденция увеличения уровней показателей с течением времени ($p > 0,05$). Минимальные показатели тревоги и депрессии отмечены при лакуарном ИИ: они не отличались от контрольных во все сроки исследования кроме уровня тревоги на 21-е сутки: $9,27 \pm 2,25$ ($p < 0,01$) (Таблица 5.2).

Таким образом, выявлено, что у всех пациентов в остром периоде ИИ закономерно повышен уровень повседневного психологического стресса, тревоги и депрессии.

У пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, в первые сутки наблюдения уровень повседневного психологического стресса, тревоги и

депрессии достоверно меньше, чем у пациентов с более высоким уровнем неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ.

В течение двух последних недель острого периода ИИ (с 7-х по 21-е сутки) практически отсутствует динамика уровня повседневного психологического стресса, тревоги и депрессии, за исключением подгруппы пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, у которых к исходу острого периода ИИ достоверно повышается уровень повседневного психологического стресса.

В целом, полученные нами данные дают основания заключить, что в остром периоде ИИ у пациентов закономерно повышается уровень повседневного психологического стресса, тревоги и депрессии, что оказывает существенное влияние на его исход заболевания.

5.3 Динамика некоторых клинических показателей, характеризующих состояние иммунной системы у пациентов после ишемического инсульта

Исследовали динамику абсолютного количества лейкоцитов, абсолютного и относительного содержания лимфоцитов, их CD3+ и CD3CD95+ пулов.

Уровень лейкоцитов в группе контроля составил $7,13 \pm 1,13 \cdot 10^9/\text{л}$, что соответствовало референтному диапазону. В группе исследования отмечалось достоверное увеличение уровня лейкоцитов относительно группы контроля на 1-е сутки ($10,39 \pm 2,92 \cdot 10^9/\text{л}$), когда был пересечен верхний уровень клинической нормы, и также на 7-е сутки ($9,07 \pm 2,23 \cdot 10^9/\text{л}$) ($p < 0,01$), когда уровень лейкоцитов после достоверного снижения ($p < 0,01$) вернулся в пределы референсных значений. К 21-м суткам снова выявлено достоверное снижение количества лейкоцитов относительно 7-х суток ($p < 0,01$) до $8,05 \pm 2,47 \cdot 10^9/\text{л}$, после чего их уровень не отличался от контрольных значений ($p > 0,05$) (Рисунок 5.16).

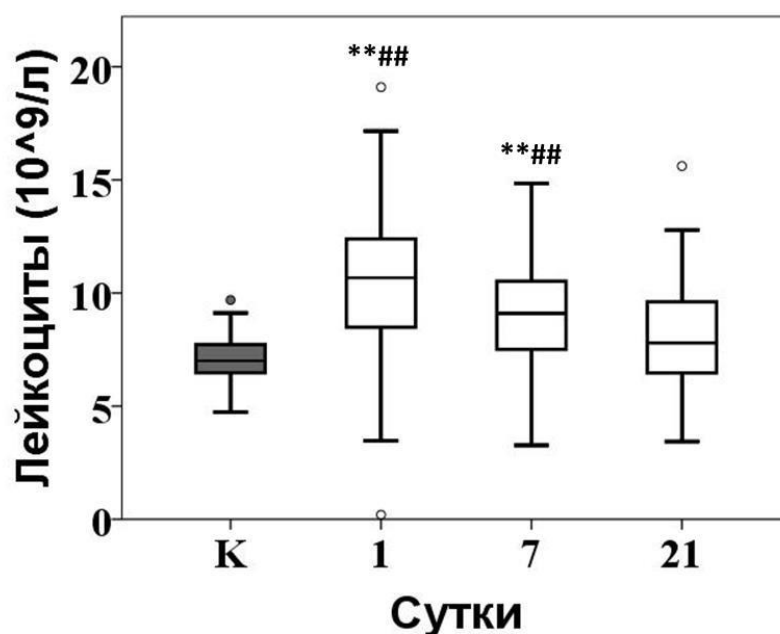


Рисунок 5.16 Содержание лейкоцитов в периферической крови пациентов на 1, 7 и 21-е сутки после ИИ и в группе контроля (К)

Между подгруппами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами острого периода ИИ достоверные различия были выявлены на 1-е (соответственно, $9,61 \pm 2,27 \cdot 10^9/\text{л}$ и $11,55 \pm 2,87 \cdot 10^9/\text{л}$) и 21-е сутки исследования (соответственно, $7,42 \pm 2,13 \cdot 10^9/\text{л}$ и $8,95 \pm 2,67 \cdot 10^9/\text{л}$) ($p < 0,01$), когда для подгруппы с благоприятным исходом параметр перестал достоверно отличаться от контрольного значения. На 7-е сутки достоверных отличий между подгруппами не выявлено (соответственно, $8,31 \pm 2,13 \cdot 10^9/\text{л}$ и $9,35 \pm 2,49 \cdot 10^9/\text{л}$). В обеих подгруппах прослеживалась динамика закономерного снижения количества лейкоцитов с 1-х к 21-м суткам исследования. Наиболее значимое снижение параметра отмечалось только в период первой недели наблюдения в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ ($p < 0,01$). При благоприятном исходе происходило постепенное снижение уровня лейкоцитов в течение всего трехнедельного периода ($p < 0,05$ для обоих временных интервалов) (Рисунок 5.17).

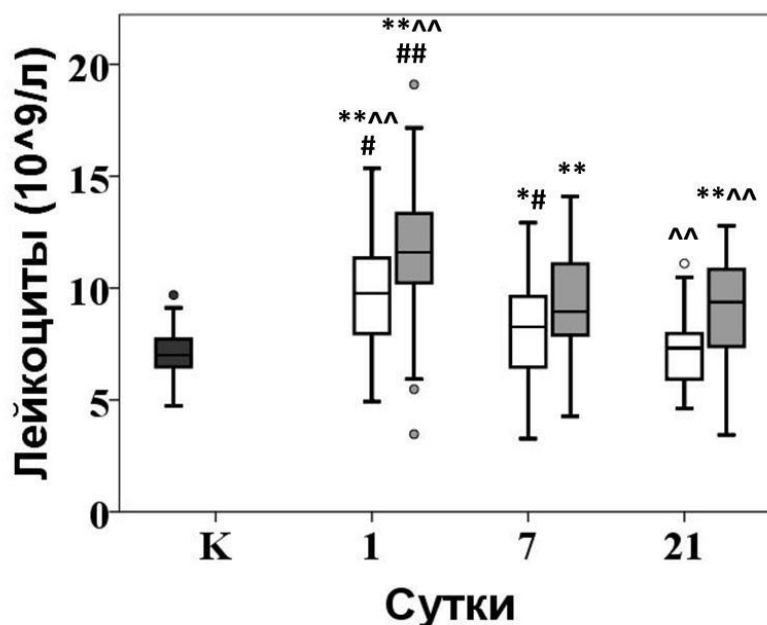


Рисунок 5.17 Содержание лейкоцитов в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на его 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К)

По критерию патогенетического подтипа ИИ достоверная динамика содержания лейкоцитов в единице объема периферической крови во все сроки исследования наблюдалась лишь при атеротромботическом ИИ. Так, к концу первой недели происходило снижение с $10,81 \pm 2,69 \cdot 10^9/\text{л}$ до $9,16 \pm 2,43 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$), а за две последующие до $8,03 \pm 2,70 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). При кардиоэмболическом ИИ с максимального среди всех патогенетических подтипов ИИ значения на 1-е сутки ($10,85 \pm 2,02 \cdot 10^9/\text{л}$) происходило достоверное снижение показателя до $9,72 \pm 1,95 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) к 7-м. И на этом сроке и по завершении острого периода ИИ, на 21-е сутки ($8,77 \pm 2,37 \cdot 10^9/\text{л}$), при кардиоэмболическом патогенетическом подтипе ИИ значения уровня лейкоцитов были наибольшими среди подгрупп с различными патогенетическими подтипами. Наименьшие значения уровня лейкоцитов в периферической крови были у пациентов с лакунарным подтипом ИИ ($8,43 \pm 3,42$, $8,34 \pm 1,67$ и $7,25 \pm 1,74 \cdot 10^9/\text{л}$ соответственно на 1, 7 и 21-е сутки), причем на 1-е и 21-е сутки они от контрольных показателей не отличались (Таблица 5.3).

Таблица 5.3 Содержание лейкоцитов, лимфоцитов и CD3-позитивных лимфоцитов в периферической крови у пациентов с различными патогенетическими подтипами ИИ и в группе контроля

Параметр (размер- ность)	Сутки	Группа Контроля	Тип инсульта			
			Атеро- тромботический	Кардио- эмболический	Лакунарный	Неуточненный
Лейко- циты (пг/мл)	1	7,13 ± 1,13	10,81 ± 2,69**##	10,85 ± 2,02**#	8,43 ± 3,42	10,68 ± 3,11**
	7		9,16 ± 2,43**#	9,72 ± 1,95**	8,34 ± 1,67*	9,12 ± 2,31**
	21		8,03 ± 2,70	8,77 ± 2,37*	7,25 ± 1,74	8,72 ± 2,81
Лимфо- циты (пг/мл)	1	1,63 ± 0,31	2,41 ± 0,82**	2,24 ± 0,58**##	1,81 ± 0,79	2,11 ± 0,63**
	7		2,57 ± 1,18**	3,35 ± 1,29**	1,87 ± 0,45*#	2,44 ± 1,17**
	21		2,33 ± 0,81**	2,34 ± 0,52**	2,33 ± 0,55**	2,37 ± 0,67**
CD3+ (пг/мл)	1	1,21 ± 0,22	1,86 ± 0,67**	1,75 ± 0,60**#	1,42 ± 0,77*	1,62 ± 0,49**
	7		1,76 ± 0,74**	2,16 ± 0,67**	1,64 ± 0,39**	1,71 ± 0,80*
	21		1,72 ± 0,69**	1,67 ± 0,46**	1,81 ± 0,42**	1,73 ± 0,50**

Наличие факторов риска (сахарный диабет ($p < 0,05$) и ИБС ($p < 0,01$)) на количество лейкоцитов в единице объема периферической крови после ИИ оказывало влияние лишь в 1 сутки его развития. Достоверных различий в содержании лейкоцитов у мужчин и женщин, а также у пациентов с лево- и правосторонней локализацией очага не обнаружено.

Уровень лимфоцитов в группе контроля составил $1,63 \pm 0,31 \cdot 10^9/\text{л}$ ($22,96 \pm 3,23\%$), что соответствовало норме. Во все сроки исследования математическое ожидание уровня лимфоцитов не выходило за пределы референтных значений, достоверно отличалось от контрольных ($p < 0,01$) и составляло на 1-е сутки $2,21 \pm 0,76 \cdot 10^9/\text{л}$ ($21,42 \pm 4,48\%$), на 7-е сутки $2,51 \pm 1,16 \cdot 10^9/\text{л}$ ($27,65 \pm 9,74\%$), на 21-е сутки $2,33 \pm 0,68 \cdot 10^9/\text{л}$ ($29,53 \pm 5,19\%$). Достоверной динамики абсолютного количества лимфоцитов в единице объема периферической крови после ИИ не обнаружено, однако она прослеживалась для их процентного содержания ($p < 0,01$ для всех временных интервалов) (Рисунок 5.18). В подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ абсолютное и относительное содержание лимфоцитов было на 1-е сутки $2,31 \pm 0,74 \cdot 10^9/\text{л}$ ($23,85 \pm 4,83\%$), на 7-е сутки $1,97 \pm 0,65 \cdot 10^9/\text{л}$ ($23,73 \pm 3,91\%$), на 21-е сутки $2,38 \pm 0,69 \cdot 10^9/\text{л}$ ($32,27 \pm 4,43\%$). Достоверное отличие от подгруппы с неблагоприятным исходом в абсолютном количестве лимфоцитов наблюдалось лишь на 7-е сутки исследования ($p < 0,01$), когда было равно $3,63 \pm 1,23 \cdot 10^9/\text{л}$ (Рисунок 5.19). При этом в процентном содержании отличия были достоверными во все сроки исследования ($p < 0,01$), когда уровень показателя был на 1-е сутки равен $19,65 \pm 3,92\%$, что соответствовало абсолютному значению $2,27 \pm 0,74 \cdot 10^9/\text{л}$, на 7-е - $38,92 \pm 7,97\%$ и на 21-е - $25,58 \pm 3,35\%$ ($2,27 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$).

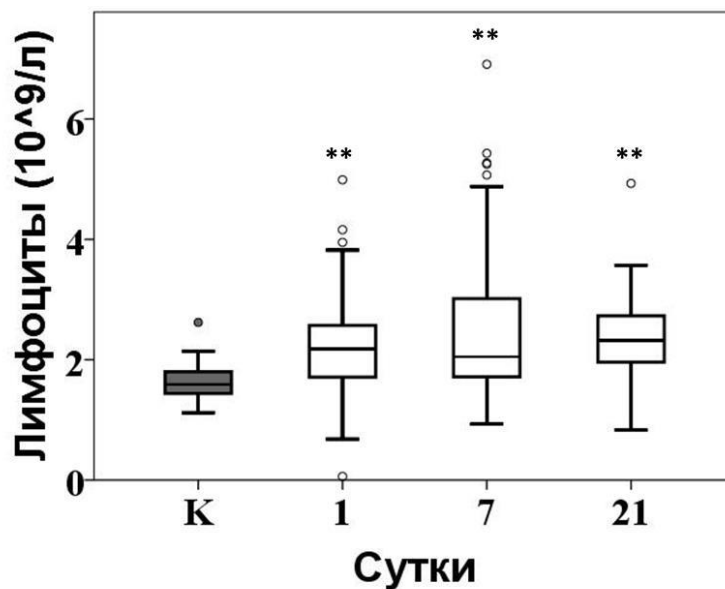


Рисунок 5.18 Содержание лимфоцитов в периферической крови пациентов на 1, 7 и 21-е сутки после ИИ и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

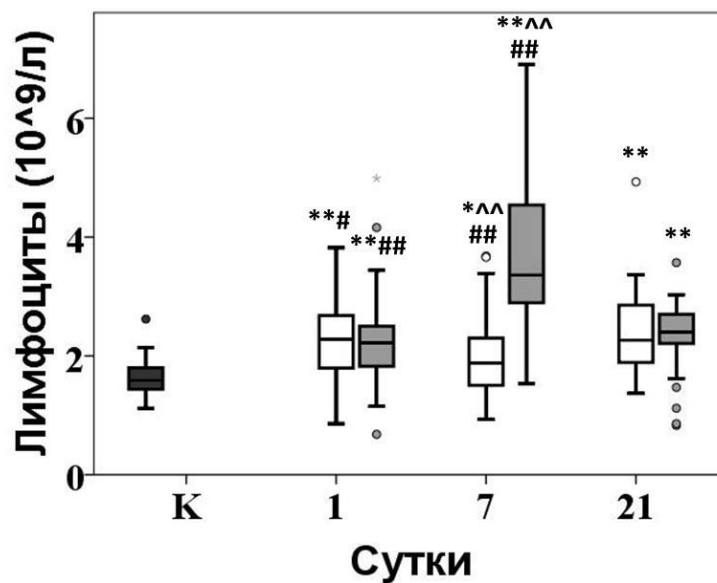


Рисунок 5.19 Содержание лимфоцитов в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

В динамике содержания лимфоцитов в периферической крови после ИИ выявлено несколько закономерных тенденций: в подгруппе пациентов с благоприятным исходом количество лимфоцитов достоверно уменьшалось к

7-м суткам, а затем возрастало ($p < 0,01$), тогда как в группе пациентов с неблагоприятным исходом к 7-м суткам происходило достоверное их увеличение с последующим достоверным уменьшением к 21 суткам до $2,27 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$ ($25,58 \pm 3,35\%$) ($p < 0,01$) (Рисунок 5.19).

При разделении пациентов с ИИ на подгруппы по его патогенетическому подтипу выявлено, что максимальных значений уровень лимфоцитов достигал на 1-е сутки при атеротромботическом ИИ ($2,41 \pm 0,82 \cdot 10^9/\text{л}$, $22,29 \pm 5,17\%$), на 7-е – при кардиоэмболическом ($3,35 \pm 1,29 \cdot 10^9/\text{л}$, $34,21 \pm 10,51\%$), на 21-е – абсолютное количество при ИИ неустановленной этиологии ($2,37 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$), а процентное содержание – при лакунарном ($32,33 \pm 3,96\%$). Наименьшее абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови во все сроки исследования было лишь у пациентов, перенесших ИИ лакунарного патогенетического подтипа, и составило на 1-е сутки $1,81 \pm 0,79 \cdot 10^9/\text{л}$, когда оно не отличалось от группы контроля, ($21,71 \pm 3,94\%$), на 7-е сутки – $1,87 \pm 0,45 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$ от контроля), на 21-е сутки $2,33 \pm 0,55 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$ от контроля). Процентное содержание лимфоцитов на 1-е и 21-е сутки было минимальным при ИИ неустановленной этиологии и составило $19,92 \pm 2,51\%$, что соответствовало $2,11 \pm 0,63 \cdot 10^9/\text{л}$ для 1-х суток и $27,70 \pm 3,72\%$ ($2,37 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$) на 21-е, на 7-е сутки – при лакунарном ИИ ($22,31 \pm 2,39\%$) (Таблица 5.3).

Пол пациентов, а также локализация ишемического очага в левом или правом полушарии головного мозга не оказывали достоверного влияния на количество лимфоцитов в периферической крови.

Из учитываемых в исследовании факторов сердечно-сосудистого риска на абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови достоверное влияние оказывали: на 1-е сутки – гиперхолестеринемия и ИБС ($p < 0,05$), на 7-е сутки – сахарный диабет ($p < 0,01$) и ИБС ($p < 0,05$), на 21-е сутки каких-либо связей не обнаружено. На процентное содержание лимфоцитов в периферической крови после ИИ достоверное влияние оказывали: на 1-е

сутки – наличие артериальной гипертензии ($p < 0,05$), на 7-е сутки – сахарного диабета ($p < 0,01$), на 21-е – ничего из рассматриваемого.

Динамика содержания CD3-позитивных лимфоцитов в периферической крови пациентов после ИИ в целом повторяла тенденции динамики общего содержания лимфоцитов (Рисунок 5.20). Так на 1-е сутки их содержание составляло $1,71 \pm 0,66 \cdot 10^9/\text{л}$ ($78,23 \pm 7,09\%$ от количества лимфоцитов), на 7-е сутки - $1,78 \pm 0,70 \cdot 10^9/\text{л}$ ($73,50 \pm 15,65\%$), на 21-е сутки - $1,73 \pm 0,57 \cdot 10^9/\text{л}$ ($73,87 \pm 6,68\%$), что было достоверно выше значения группы контроля, которое составляло $1,21 \pm 0,22 \cdot 10^9/\text{л}$ ($74,18 \pm 2,53\%$) ($p < 0,01$).

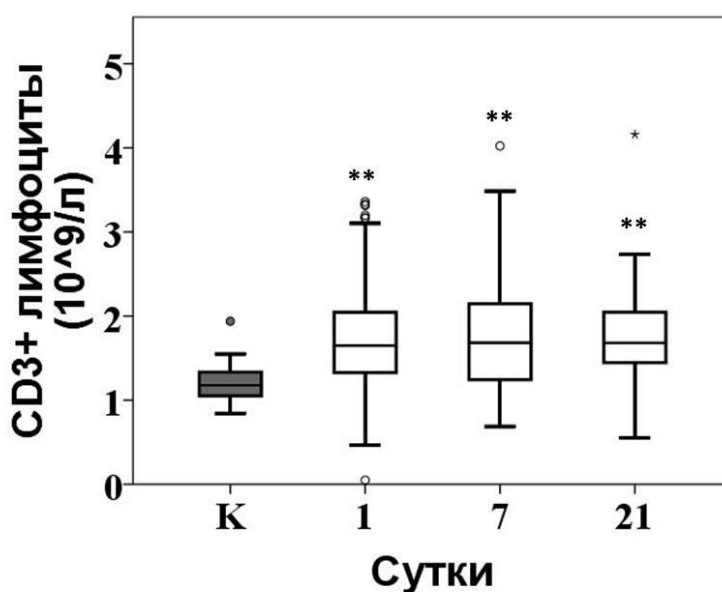


Рисунок 5.20 Содержание CD3-позитивных лимфоцитов в периферической крови пациентов на 1, 7 и 21-е сутки после ИИ и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

В подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ абсолютное и относительное содержание CD3+ лимфоцитов на 1-е сутки было равно $1,98 \pm 0,69 \cdot 10^9/\text{л}$ ($84,98 \pm 4,92\%$), на 7-е сутки $1,72 \pm 0,62 \cdot 10^9/\text{л}$ ($86,89 \pm 8,96\%$), на 21-е сутки - $1,86 \pm 0,59 \cdot 10^9/\text{л}$ ($77,67 \pm 4,84\%$). Оно достоверно отличалось от абсолютного показателя в подгруппе с неблагоприятным исходом на 1-е ($p < 0,05$) и 7-е ($p < 0,01$) сутки, где составляло на 1-е сутки $1,68 \pm 0,53 \cdot 10^9/\text{л}$ ($74,01 \pm 4,85\%$), на 7-е сутки $2,20 \pm 0,73 \cdot 10^9/\text{л}$ ($61,36 \pm 9,03\%$), а на 21-е сутки $1,55 \pm 0,49 \cdot 10^9/\text{л}$ ($68,40 \pm 4,95\%$). Различия в процентном содержании CD3+

лимфоцитов между рассматриваемыми подгруппами были достоверными во все сроки исследования ($p < 0,01$). В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ не наблюдалось достоверной динамики абсолютного показателя на протяжении всего острого периода, тогда как в группе с неблагоприятным исходом к 7-м суткам происходил достоверный рост показателя ($p < 0,01$), а к 21-м достоверный спад ($p < 0,01$). В процентном содержании CD3⁺ лимфоцитов в рассматриваемых подгруппах наблюдались динамики противоположной направленности. Так, в подгруппе благоприятного исхода к 7-м суткам происходило достоверное увеличение показателя до максимального значения ($p < 0,01$), а затем его достоверный спад ($p < 0,01$). В подгруппе неблагоприятного исхода на 7-е сутки наблюдался провал, причем во всех временных промежутках изменения были также достоверными ($p < 0,01$) (Рисунок 5.21).

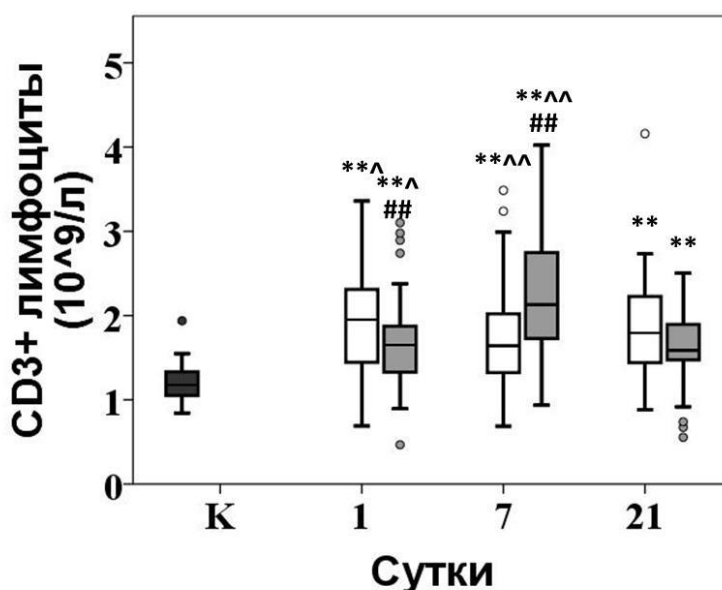


Рисунок 5.21 Содержание CD3-позитивных лимфоцитов в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики), неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ на 1, 7 и 21-е сутки и в группе контроля (К), остальные обозначения, как на рисунке 5.6

При разделении пациентов группы исследования на подгруппы по патогенетическому подтипу ИИ выявлено, что максимальное абсолютное количество CD3⁺ лимфоцитов на 1-е сутки исследования наблюдалось при

атеротромботическом ИИ $1,86 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$, на 7-е сутки при кардиоэмболическом ИИ $2,16 \pm 0,67 \cdot 10^9/\text{л}$, на 21-е при лакунарном ИИ $1,81 \pm 0,42 \cdot 10^9/\text{л}$. Их процентное содержание во все сроки исследования было наибольшим при лакунарном ИИ: на 1-е сутки $84,01 \pm 2,27\%$, на 7-е сутки $87,78 \pm 3,08\%$, на 21-е сутки $77,98 \pm 2,80\%$.

Наименьшее абсолютное количество CD3+ лимфоцитов в единице объема периферической крови среди подгрупп с разными патогенетическими подтипами ИИ на 1-е и 7-е сутки обнаружено у пациентов, перенесших ИИ лакунарного подтипа. На 1-е сутки оно составило $1,42 \pm 0,77 \cdot 10^9/\text{л}$, на 7-е сутки $1,64 \pm 0,39 \cdot 10^9/\text{л}$. На 21-е сутки наименьшее абсолютное количество CD3+ лимфоцитов в периферической крови отмечалось у перенесших кардиоэмболический ИИ пациентов и составляло $1,67 \pm 0,46 \cdot 10^9/\text{л}$. Минимальное процентное содержание пула CD3+ лимфоцитов на 1-е сутки было у пациентов с ИИ неустановленной этиологии ($76,93 \pm 6,61\%$), на 7-е и 21-е сутки – с кардиоэмболическим патогенетическим подтипом (соответственно, $67,56 \pm 15,47\%$ и $71,27 \pm 9,04\%$) (Таблица 5.3).

Пол пациентов, а также локализация ишемического очага в левом или правом полушарии головного мозга не оказывали достоверного влияния ни на абсолютное ни на относительное содержание CD3+ лимфоцитов в периферической крови в остром периоде ИИ.

Из изученных в исследовании факторов сердечно-сосудистого риска на абсолютное количество CD3+ лимфоцитов в периферической крови достоверное влияние оказывало лишь наличие сахарного диабета на 7-е сутки исследования ($p < 0,05$), а на их процентное содержание на 1-е и 7-е сутки гиперхолестеринемия ($p < 0,05$ для всех сроков исследования) и ИБС ($p < 0,05$ для 1-х и $p < 0,01$ для 7-х суток).

Таким образом, в острейшем периоде ИИ (1-е сутки исследования) относительно контрольных показателей увеличивается количество лейкоцитов в единице объема периферической крови, после чего происходит закономерное его снижение в течение всего последующего острого периода.

У пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше 5, это увеличение достоверно более выражено, чем у пациентов с менее высоким уровнем неврологического дефицита в исходе острого периода ИИ.

Развитие ИИ приводит в первые сутки к увеличению абсолютного количества лимфоцитов и CD3-позитивных лимфоцитов в их составе, снижению процентного содержания лимфоцитов и увеличению среди них доли CD3-позитивных лимфоцитов относительно контрольных показателей.

Для пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше 5, на 7-е сутки острого периода ИИ приходится пик абсолютного содержания лимфоцитов и CD3-позитивных лимфоцитов с последующим уменьшением их количества. Для пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода меньше 5, на 7-е сутки острого периода ИИ приходится провал абсолютного числа лимфоцитов при отсутствии достоверной динамики содержания их CD3-позитивного пула.

Для процентного содержания CD3-позитивных лимфоцитов в подгруппах пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода больше или меньше 5, характерны взаимопротивоположные тенденции с максимальным значением показателя на 7 сутки у пациентов с NIHSS на 21-е сутки менее 5 и минимальным при NIHSS на 21-е сутки более 5.

Полученные факты дают основания заключить, что в остром периоде ИИ существуют определенные закономерности динамики лейкоцитов, лимфоцитов и CD3-позитивных лимфоцитов, которые могут служить как значимые прогностические маркеры течения заболевания. Вместе с тем, большинство изменений происходит в рамках референтных значений. В связи с этим, если значение показателя не выходит за рамки клинической нормы, необходимо ориентироваться на тенденции его динамики, что становится возможным лишь к 7-м суткам острого периода ИИ.

Таблица 5.4 Динамика содержания гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 в периферической крови, а также выраженности стресса, тревоги, депрессии у пациентов в остром периоде ишемического инсульта и в группе контроля (К)

Параметр	сутки	В целом	Исход		Пол		Локализация	
			Благоприятный	Неблагоприятный	Мужской	Женский	ЛСМА	ПСМА
АКТГ (пг/мл)	К	7,91 ± 1,88			8,12 ± 1,94	7,73 ± 1,88		
	1	15,60 ± 6,40***	11,10 ± 4,22**^	18,61 ± 5,26**^	15,86 ± 6,11***	15,34 ± 6,69***	15,32 ± 6,68***	15,81 ± 6,21***
	7	10,93 ± 3,98**	8,97 ± 2,60^	12,36 ± 4,24**^	11,10 ± 4,14*	10,75 ± 3,82**	11,32 ± 4,27**	10,55 ± 3,67**
	21	9,20 ± 2,63**	9,46 ± 2,20**	8,84 ± 3,16	8,82 ± 2,11	9,60 ± 3,07**	9,18 ± 2,90	9,22 ± 2,49*
Кортизол (пг/мл)	К	246,99 ± 45,68			250,39 ± 50,20	244,03 ± 42,94		
	1	507,90 ± 134,93***	419,91 ± 163,37**^	568,23 ± 59,48**^	511,88 ± 141,85***	504,08 ± 128,73***	505,23 ± 133,46***	509,88 ± 136,73***
	7	339,09 ± 84,34**	274,22 ± 50,36**^	409,17 ± 44,09**^	342,79 ± 84,75**	335,26 ± 84,55**	345,44 ± 82,02**	332,98 ± 86,82**
	21	368,54 ± 93,03**	337,82 ± 76,45**^	412,77 ± 98,28**^	363,30 ± 94,34**	373,94 ± 92,94**	378,80 ± 100,91**	361,88 ± 88,33**
Адреналин (пг/мл)	К	62,05 ± 27,66			68,53 ± 28,22	56,43 ± 26,83		
	1	71,92 ± 26,64##	90,71 ± 28,68**^	58,00 ± 21,04^	71,46 ± 27,89##	72,36 ± 25,55***	68,17 ± 26,56##	74,69 ± 26,51***
	7	101,75 ± 27,99***	100,60 ± 26,61***	102,93 ± 25,69***	100,86 ± 27,07***	102,66 ± 29,15***	102,15 ± 28,10***	101,36 ± 28,14***
	21	62,98 ± 26,68	63,73 ± 27,03	61,91 ± 26,68	64,54 ± 24,73	61,38 ± 28,89	63,60 ± 26,59	62,58 ± 27,09
Норадреналин (пг/мл)	К	126,99 ± 14,51			123,71 ± 18,34	129,84 ± 9,97		
	1	125,44 ± 41,72##	138,80 ± 43,96^	120,42 ± 38,28^	128,90 ± 44,36##	122,12 ± 39,01	119,31 ± 41,28##	129,97 ± 41,70
	7	142,62 ± 43,01*	137,53 ± 42,07	139,64 ± 39,43	151,51 ± 42,01*	133,38 ± 42,46	141,07 ± 43,76	144,11 ± 42,62*
	21	144,18 ± 41,53*	139,98 ± 46,14	150,22 ± 33,80**	150,01 ± 43,41*	138,15 ± 39,30	135,83 ± 38,86	149,60 ± 42,81**
ИЛ-6 (пг/мл)	К	4,22 ± 1,12			4,18 ± 1,11	4,25 ± 1,17		
	1	11,15 ± 4,25***	10,51 ± 4,71**^	12,38 ± 3,79**^	11,73 ± 4,25***	10,60 ± 4,19***	11,08 ± 4,14***	11,21 ± 4,35***
	7	21,62 ± 11,05***	14,65 ± 8,63**^	29,85 ± 7,18**^	22,10 ± 10,96***	21,13 ± 11,22***	21,87 ± 11,07***	21,38 ± 11,12***
	21	13,97 ± 7,32**	9,70 ± 4,34**^	20,11 ± 6,31**^	13,76 ± 6,28**	14,18 ± 8,36**	14,97 ± 7,93**	13,32 ± 6,92**
Reeder	К	3,34 ± 0,53			3,37 ± 0,46	3,31 ± 0,60		
	7	2,19 ± 0,98**	2,75 ± 1,00**^	1,67 ± 0,64**^	2,16 ± 0,97**	2,22 ± 1,00**	2,09 ± 0,91**	2,29 ± 1,04**
	21	1,84 ± 0,51**	1,84 ± 0,55**	1,84 ± 0,44**	1,72 ± 0,48**	1,95 ± 0,51**	2,04 ± 0,55**^	1,71 ± 0,44**^
HADS T	К	6,18 ± 2,31			6,46 ± 1,71	5,93 ± 2,76		
	7	11,40 ± 3,58**	10,08 ± 3,82**^	12,67 ± 2,72**^	11,67 ± 3,37**	11,11 ± 3,80**	11,36 ± 3,44**	11,44 ± 3,75**
	21	10,85 ± 2,89**	9,33 ± 2,48**^	13,04 ± 1,84**^	10,81 ± 2,68**	10,90 ± 3,13**	10,79 ± 3,26**	10,89 ± 2,66**
HADS D	К	5,39 ± 2,39			5,15 ± 2,38	5,60 ± 2,47		
	7	11,58 ± 5,24**	8,50 ± 4,07**^	15,39 ± 3,47**^	12,36 ± 4,85**	10,77 ± 5,55**	12,08 ± 5,20**	11,11 ± 5,29**
	21	10,77 ± 4,65**	7,69 ± 2,96**^	15,20 ± 2,58**^	11,16 ± 5,02**	10,37 ± 4,28**	11,21 ± 5,57**	10,49 ± 4,00**

Глава 6 Взаимосвязь уровней гормонов стресс-реализующей системы и клинических проявлений у пациентов в остром периоде ишемического инсульта

6.1 Корреляции уровней гормонов стресс-реализующей системы и показателей тревоги, стресса, депрессии и системного воспалительного ответа у пациентов в остром периоде ишемического инсульта

В этом разделе приводятся основные результаты исследования направления и тесноты связи между количественными показателями уровня содержания в периферической крови пациентов после ИИ факторов, связанных с реализацией ответа на стрессорное воздействие, и клиническими показателями их психоэмоционального состояния. Для решения этой задачи были использованы методы корреляционного анализа полученных фактических данных.

Динамика концентрации АКТГ в крови, измеренная на 1-е сутки исследования достоверно коррелировала с динамикой уровня депрессии, тревоги по шкале HADS и уровнем стресса по опроснику Reeder на 7-е сутки в общей группе исследования (соответственно, $r = 0,561$, $p < 0,01$, $r = 0,427$, $p < 0,01$ и $r = -0,298$, $p < 0,01$), а также в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,596$, $p < 0,01$, $r = 0,456$, $p < 0,01$ и $r = 0,348$, $p < 0,05$). С уровнем тревоги также прослеживалась достоверная корреляция и в подгруппе неблагоприятного ($r = 0,448$, $p < 0,01$) исхода острого периода ИИ (Таблица 6.1).

Выраженность депрессии и тревоги к 21-м суткам была связана с показателем концентрации АКТГ в 1-е сутки исследования в общей группе (соответственно, $r = 0,574$, $p < 0,01$ и $r = 0,484$, $p < 0,01$), а уровень стресса - в подгруппах благоприятного ($r = -0,542$, $p < 0,01$) и неблагоприятного ($r = 0,438$, $p < 0,05$) исхода. Концентрация АКТГ, измеренная на 7-е сутки исследования коррелировала с уровнем стресса по опроснику Reeder на 21-е в общей

выборке и подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = -0,310$, $p < 0,05$ и $r = -0,370$, $p < 0,05$).

Таблица 6.1 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей психоэмоционального состояния пациентов с ИИ и концентраций кортизола и АКТГ в периферической крови на указанные в таблице сутки исследования

Шкала (баллы)	сутки	АКТГ (пг/мл)		Кортизол (нмоль/л)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
HADS Д	7	0,561**	0,029	0,521**	0,066
	21	0,574**	-0,117	0,482**	0,418**
HADS T	7	0,427**	-0,058	0,425**	-0,088
	21	0,484**	-0,026	0,430**	0,340*
Reeder	7	-0,298**	0,092	-0,127	-0,039
	21	-0,119	-0,310*	-0,064	-0,106

Концентрация АКТГ также была связана с количественными характеристиками содержания форменных элементов в периферической крови. Так, уровень АКТГ на 1-е сутки исследования коррелировал с количеством лейкоцитов, в т.ч. лимфоцитов: в общей группе пациентов с ИИ на 1-е (соответственно, $r = 0,349$, $p < 0,01$ и $r = 0,192$, $p < 0,05$) и 7-е (соответственно, $r = 0,292$, $p < 0,01$ и $r = 0,390$, $p < 0,01$) сутки; в подгруппе благоприятного исхода ИИ на 1-е сутки с обоими показателями (соответственно, $r = 0,427$, $p < 0,01$ и $r = 0,512$, $p < 0,01$), а на 7-е только с абсолютным количеством лимфоцитов ($r = 0,380$, $p < 0,05$). Концентрация АКТГ на 21-е сутки коррелировала с количеством лейкоцитов на том же сроке ($r = 0,357$, $p < 0,05$) в общей группе пациентов.

На рисунке 6.1 А представлена корреляция показателя уровня депрессии на 7-е сутки пребывания пациента с ИИ в стационаре с концентрацией АКТГ в 1-е сутки исследования (Рисунок 6.1).

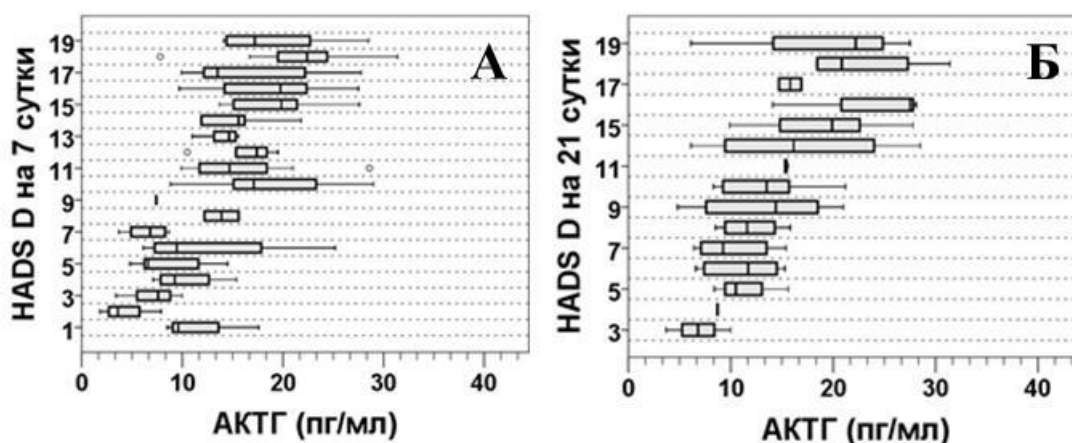


Рисунок 6.1 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации АКТГ в 1-е сутки

Обращает на себя внимание тенденция формирования двух совокупностей: в первой балл по шкале депрессии HADS у пациентов с ИИ был менее 7 (что ниже диагностического порога субклинически выраженной депрессии равного 8 баллам), а концентрация АКТГ меньше 15 пг\мл. Во второй - балл по шкале депрессии выше 10, а концентрация АКТГ выше 15 пг\мл. Однако эти совокупности перекрываются, что отвергает возможность использования определения концентрации АКТГ в крови при поступлении пациента с ИИ как прогностический критерий развития у него депрессии к концу первой недели пребывания в стационаре. Вместе с тем этот факт выявляет возможную мишень для разработки патогенетически обоснованной коррекции изучаемого состояния.

К 21-м суткам для депрессии, а также для уровня тревоги во все сроки исследования такого разделения пациентов не выявлено (Рисунок 6.2).

Таким образом, с уровнем депрессии, тревоги и стресса на протяжении всего острого периода ИИ тесно коррелирует концентрация АКТГ в первые сутки. При этом наиболее тесная связь выявлена с уровнем депрессии.

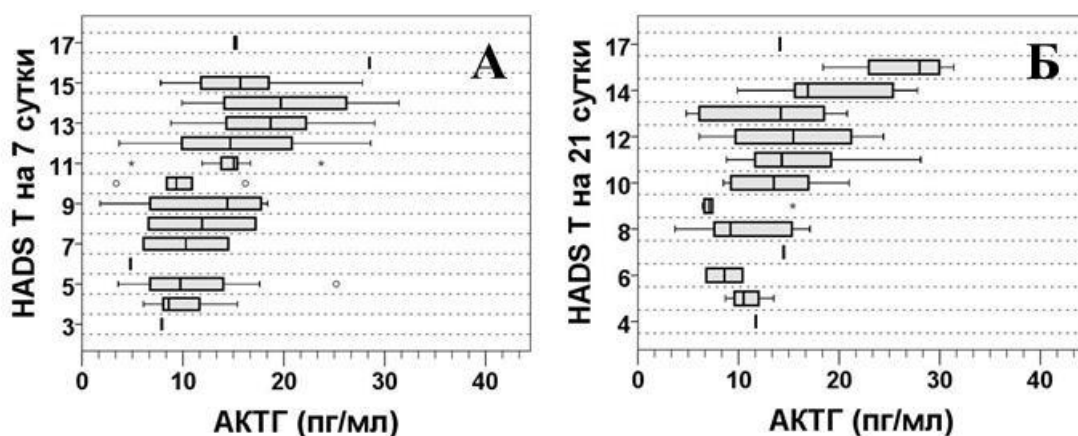


Рисунок 6.2 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки тревоги HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации АКТГ в 1-е сутки исследования

Концентрация кортизола в периферической крови пациентов в 1-е сутки после ИИ была связана с уровнем депрессии и тревоги по шкале HADS на 7-е в общей группе исследования ($r = 0,521$, $p < 0,01$ и $r = 0,425$, $p < 0,01$, соответственно, для депрессии и тревоги) и в подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ ($r = 0,718$, $p < 0,01$ и $r = 0,463$, $p < 0,01$). С уровнем тревоги на этом сроке также достоверной была связь в подгруппе неблагоприятного исхода острого периода ИИ ($r = 0,353$, $p < 0,05$) (Таблица 6.1).

Уровень депрессии на 21-е сутки коррелировал с концентрацией кортизола при поступлении в общей группе исследования ($r = 0,482$, $p < 0,01$). Уровень психологического стресса по опроснику Reeder на 7-е в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,481$, $p < 0,01$) и 21-е сутки в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода (соответственно, $r = -0,437$, $p < 0,01$ и $r = 0,544$, $p < 0,01$) был связан с концентрацией кортизола в острейшем периоде. Измеренная на 7-е сутки после ИИ концентрация кортизола была связана в общей выборке с уровнем депрессии и тревоги (соответственно, $r = 0,418$, $p < 0,01$ и $r = 0,340$, $p < 0,05$), а в подгруппе неблагоприятного исхода только с выраженностью депрессии ($r = 0,484$, $p < 0,05$) на 21-е сутки исследования.

Значимыми были корреляции концентрации кортизола на 1-е сутки и количества лейкоцитов в единице объема периферической крови в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода на том же сроке (соответственно, $r = 0,335$, $p < 0,01$ и $r = 0,372$, $p < 0,05$), а также абсолютного содержания лимфоцитов на 1-е сутки в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = 0,273$, $p < 0,01$ и $r = 0,489$, $p < 0,01$) и на 7-е в общей группе исследования ($r = 0,263$, $p < 0,01$). Уровень кортизола на 7-е сутки был связан с количеством лейкоцитов в единице объема крови на том же сроке исследования в подгруппе неблагоприятного исхода ($r = -0,474$, $p < 0,05$).

На рисунке 6.3А показана зависимость уровня депрессии на 7-е сутки пребывания пациента с ИИ в стационаре от концентрации кортизола в 1-е сутки исследования (Рисунок 6.3). Обращает на себя внимание тенденция формирования двух совокупностей: в первой балл по шкале депрессии HADS менее 5 (что ниже диагностического порога субклинически выраженной депрессии равного 8 баллам), а концентрация кортизола меньше 450 нмоль\л, во второй – балл по шкале депрессии HADS выше 11 (что является диагностическим порогом клинически выраженной депрессии), а концентрация кортизола выше 450 нмоль\л. Однако эти совокупности перекрываются, что отвергает возможность использовать концентрацию кортизола при поступлении пациента с ИИ как прогностический критерий развития у него депрессии к концу первой недели пребывания в стационаре. Однако наряду с результатами по концентрации АКТГ этот результат показывает возможное направление для разработки патогенетически обоснованной коррекции изучаемого состояния. К 21-м суткам для показателя уровня депрессии, а также во все сроки исследования для уровня тревоги такого разделения выявлено не было (Рисунок 6.4).

Таким образом, концентрация кортизола в периферической крови у пациентов с ИИ, измеренная в первые сутки исследования, коррелирует с уровнем депрессии, тревоги и стресса на протяжении всего острого периода

ИИ (21-и сутки наблюдения). Наиболее тесная связь выявлена для концентрации кортизола с уровнем депрессии.

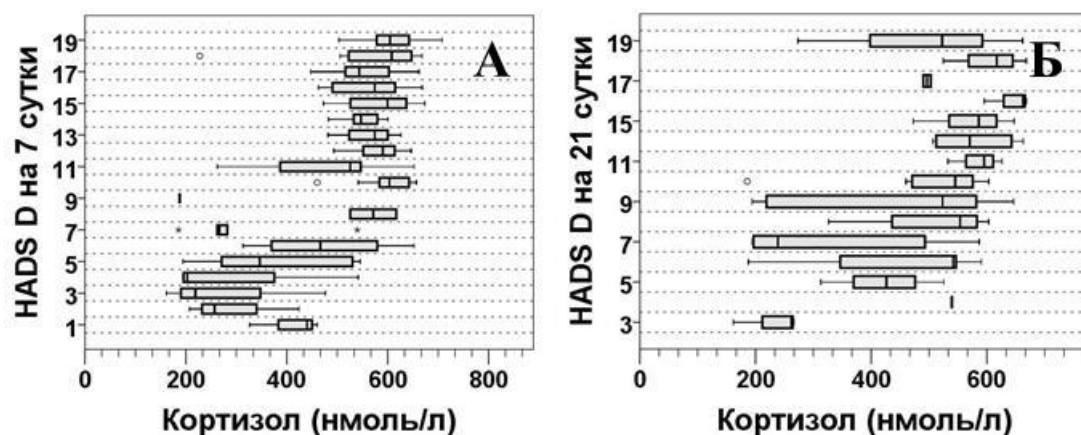


Рисунок 6.3 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации кортизола в 1-е сутки

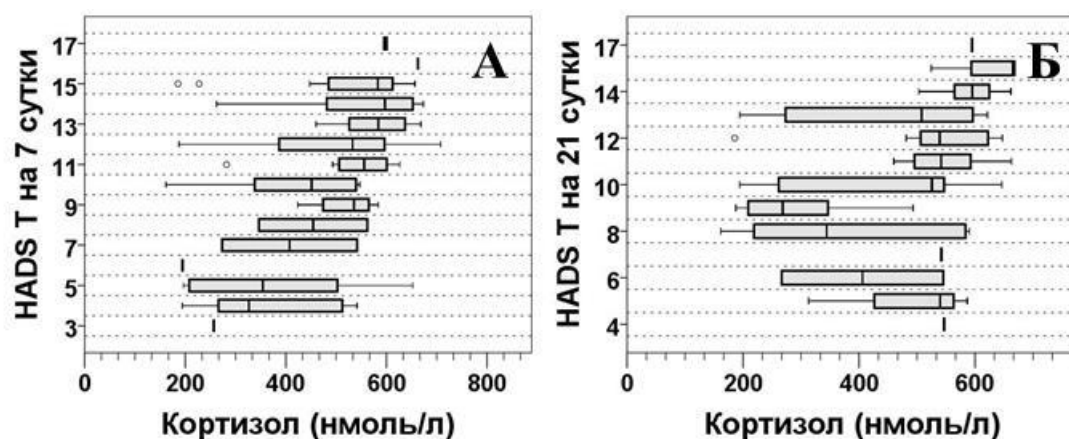


Рисунок 6.4 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки тревоги HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации кортизола в 1-е сутки исследования

С показателями депрессии, тревоги и стресса достоверно коррелировала также концентрация ИЛ-6 в периферической крови, измеренная на 1-е сутки исследования. Так, в общей выборке были достоверные корреляционные связи величины содержания ИЛ-6 с уровнем депрессии и тревоги в баллах по шкале HADS на 7-е сутки ($r = 0,375$, $p < 0,01$ и

$r = 0,369$, $p < 0,01$, соответственно, для депрессии и тревоги) и на 21-е сутки (соответственно, $r = 0,342$, $p < 0,01$ и $r = 0,273$, $p < 0,05$).

В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ были достоверные связи с уровнем депрессии, тревоги и психологического стресса на 7-е сутки (соответственно, $r = 0,680$, $p < 0,01$, $r = 0,521$, $p < 0,01$ и $r = 0,400$, $p < 0,05$), а также депрессии и психологического стресса на 21-е (соответственно, $r = 0,338$, $p < 0,05$ и $r = -0,472$, $p < 0,01$). С количеством лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема периферической крови были выявлены следующие связи: концентрация ИЛ-6 на 1-е сутки коррелировала с обоими вышеуказанными показателями в тот же срок исследования в общей группе исследования (соответственно, $r = 0,242$, $p < 0,01$ и $r = 0,185$, $p < 0,05$) и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = 0,394$, $p < 0,05$ и $r = 0,481$, $p < 0,01$). Также в подгруппе благоприятного исхода концентрация ИЛ-6 на 21-е сутки была связана с уровнем лейкоцитов на том же сроке ($r = 0,467$, $p < 0,05$). В общей группе выявлена связь концентрации ИЛ-6 и уровня лимфоцитов на 7-е сутки ($r = 0,227$, $p < 0,05$).

При построении графического изображения зависимости уровня депрессии на 7-е сутки пребывания пациента с ИИ в стационаре от концентрации ИЛ-6 на 1-е сутки исследования выраженной тенденции к формированию двух совокупностей подобно случаям с АКТГ и кортизолом отмечено не было (Рисунок 6.5, Рисунок 6.6).

Таким образом, концентрация ИЛ-6 в периферической крови пациентов с ИИ, измеренная в первые сутки исследования, коррелирует с уровнем депрессии, тревоги и в меньшей степени стресса на протяжении всего острого периода ИИ (до 21-х суток наблюдения включительно). Направление выявленных корреляционных связей концентрации ИЛ-6 сходны с таковыми для АКТГ и кортизола.

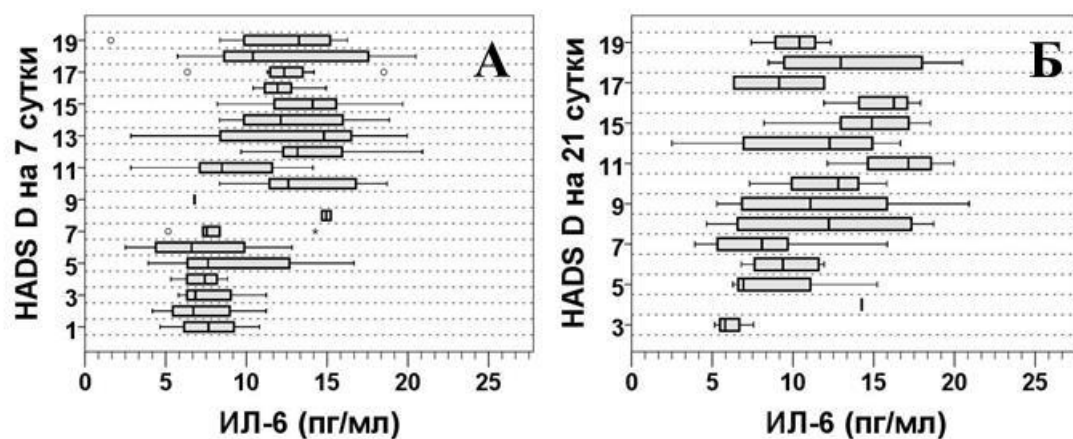


Рисунок 6.5 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации ИЛ-6 в 1-е сутки исследования

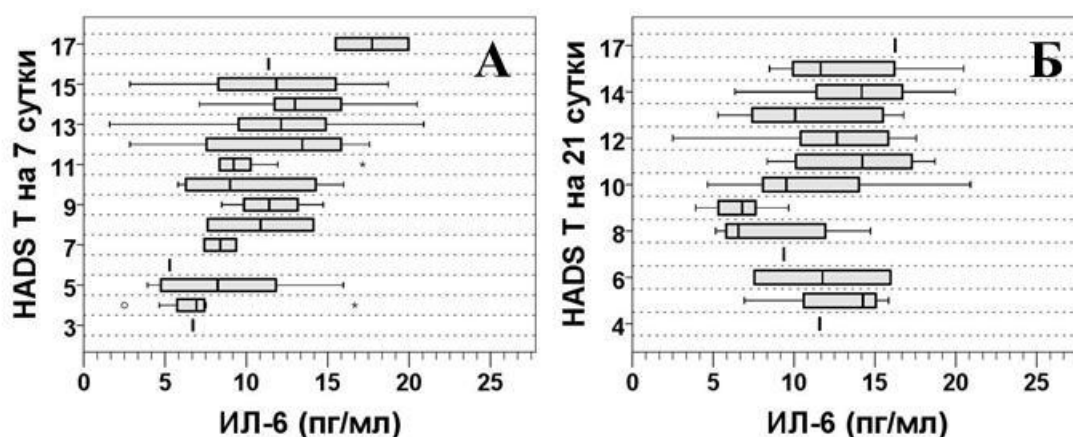


Рисунок 6.6 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки тревоги HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от концентрации ИЛ-6 в 1-е сутки исследования

Концентрация адреналина на 1-е сутки исследования в общей выборке коррелировала с уровнем депрессии, тревоги и психологического стресса на 7-е сутки (соответственно, $r = -0,439$, $p < 0,01$, $r = -0,234$, $p < 0,05$ и $r = 0,390$, $p < 0,01$), депрессии и тревоги на 21-е (соответственно, $r = -0,505$, $p < 0,01$ и $r = -0,461$, $p < 0,01$), а также с количеством лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема периферической крови на 7 –е сутки (соответственно, $r = -0,219$, $p < 0,05$ и $r = -0,248$, $p < 0,01$) (Таблица 6.2). В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ отмечены достоверные

корреляции между концентрацией адреналина на 1-е и уровнем депрессии на 21-е ($r = -0,530$, $p < 0,01$), концентрацией адреналина на 7-е и уровнем депрессии и тревоги в тот же срок (соответственно, $r = -0,401$, $p < 0,05$ и $r = -0,403$, $p < 0,05$).

Таблица 6.2 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей психоэмоционального состояния пациентов с ИИ и концентраций адреналина и норадреналина в периферической крови на указанные в таблице сутки исследования

Шкала (баллы)	сутки	Адреналин (пг/мл)		Норадреналин (пг/мл)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
HADS Д	7	-0,439**	0,043	-0,206*	-0,129
	21	-0,505**	0,026	-0,296*	-0,095
HADS Т	7	-0,234*	-0,123	-0,14	0,011
	21	-0,461**	0,035	-0,125	0,061
Reeder	7	0,390**	-0,036	0,257**	0,079
	21	-0,062	-0,246	0,185	0,069

Концентрация норадреналина имела наименьшее из всех исследованных показателей эффикторов стресс-реализующих систем количество достоверных корреляционных связей. Концентрация норадреналина на 1-е сутки коррелировала в общей выборке с уровнем депрессии на 7-е и 21-е (соответственно, $r = -0,206$, $p < 0,05$ и $r = -0,296$, $p < 0,05$) и с выраженностью психологического стресса на 7-е ($r = 0,257$, $p < 0,01$). Концентрация норадреналина на 21-е сутки была достоверно связана с уровнем лейкоцитов и лимфоцитов на том же сроке исследования в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = -0,484$, $p < 0,05$ и $r = -0,491$, $p < 0,05$).

Таким образом, концентрации катехоламинов (адреналина и норадреналина) имели наименьшее из всех исследуемых показателей эффикторов стресс-реализующих систем количество достоверных корреляционных связей. Из имевшихся наиболее выраженными они были с уровнем депрессии. Направление связей было противоположным таковому

для концентраций кортизола, АКТГ и ИЛ-6, т.е. пациенты с более низким уровнем катехоламинов в периферической крови имели более высокие показатели депрессии и тревоги, для уровня психологического стресса картина была иная: рост концентрации адреналина и норадреналина в крови соответствовал увеличению уровня стресса.

Таким образом, в остром периоде ИИ у пациентов с выраженностью стресса, тревоги и депрессии на протяжении всего острого периода ИИ имеют достоверные закономерные корреляционные связи: уровень нейрогуморальных эффекторов стресс-реализующих систем АКТГ, кортизол, катехоламины, ИЛ-6 лишь в первые сутки исследования. На более поздних сроках их концентрация с вышеуказанными клиническими показателями достоверно не коррелировала.

Концентрация АКТГ, кортизола и ИЛ-6 имели прямые связи с выраженностью тревоги и депрессии, а катехоламины – обратные. Для уровня психологического стресса таких различий не выявлено.

С абсолютным содержанием лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема периферической крови для концентрации эффекторов стресс-реализующих систем, измеренной на 1-е сутки исследования, выявлены достоверные корреляционные связи. Наиболее сильная связь на 1-е сутки исследования с уровнем лейкоцитов у концентрации АКТГ, с уровнем лимфоцитов у концентрации кортизола. АКТГ, кортизол и адреналин при поступлении пациента с ИИ в стационар связаны также с уровнем лейкоцитов и лимфоцитов на 7-е сутки, причем АКТГ и кортизол - прямо. В случае с концентрацией адреналина зависимость была обратной.

Наибольшую прогностическую значимость для уровня депрессии и тревоги в исходе острого периода ИИ при поступлении пациента в стационар имели концентрации кортизола и АКТГ, однако учитывая, что показатели их концентрации находились в рамках референтных значений, использовать их в клинической практике для данной цели не информативно.

В целом, анализ полученных фактических данных дает основание заключить, что в остром периоде ИИ закономерные изменения активности стресс-реализующих систем существенно влияют на психоэмоциональное состояние пациентов в остром периоде ИИ. Это необходимо учитывать при планировании лечебно-реабилитационных алгоритмов для каждого пациента.

Вместе с тем, использовать как прогностические маркеры развития депрессии и тревоги при нахождении пациента с ИИ в стационаре указанные показатели нецелесообразно.

6.2 Закономерности изменения концентрации гормонов стресс-реализующей системы и особенности клинического течения острого периода ишемического инсульта

Для исследования направления и тесноты связи между количественными показателями нейрогуморальных эффе́кторов стресс-реализующих систем на клинические особенности течения и исход острого периода ИИ были использованы методы корреляционного анализа. Провели корреляционный анализ концентраций АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина и выраженности неврологического и функционального дефицита в баллах по шкалам NIHSS, Бартел и Рэнкина, а также темпом восстановления в двух временных интервалах пребывания пациентов после перенесенного ИИ в стационаре: 1-7-е (первый временной интервал) и 7-21-е сутки (второй временной интервал).

Концентрация АКТГ в 1-е сутки исследования в общей группе пациентов с ИИ была тесно связана с выраженностью неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS ($r = 0,552$, $p < 0,01$) и со степенью функциональных нарушений по шкалам Бартел ($r = -0,567$, $p < 0,01$) и Рэнкина ($r = 0,560$, $p < 0,01$) в тот же день. В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ достоверные связи были также с количеством баллов по шкале NIHSS ($r = 0,822$, $p < 0,01$), Бартел ($r = -0,819$, $p < 0,01$) и Рэнкина ($r = 0,830$, $p < 0,01$) на те же сутки и с темпом динамики

неврологического статуса во временном периоде с 1-х по 7-е сутки ($r = 0,575$, $p < 0,01$) (Таблица 6.3).

Концентрация АКТГ в 1-е сутки имела четкое прогностическое значение, т.к. имелись статистически достоверные связи с уровнем неврологического дефекта ($r = 0,719$, $p < 0,01$), а также степенью функциональных нарушений ($r = -0,759$, $p < 0,01$ и $r = 0,765$, $p < 0,01$, соответственно, для шкал Бартел и Рэнкина) в исходе острого периода ИИ в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, для шкал NIHSS, Бартел и Рэнкина $r = 0,730$, $p < 0,01$, $r = -0,730$, $p < 0,01$ и $r = 0,805$, $p < 0,01$).

Таблица 6.3 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей клинического течения острого периода у пациентов с ИИ и концентраций АКТГ и кортизола в общей группе исследования на указанные в таблице сутки исследования

Шкала (баллы)	сутки	АКТГ (пг/мл)		Кортизол (нмоль/л)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
NIHSS	1	0,552**	0,182	0,485**	0,147
	7	0,688**	0,184	0,657**	0,216
	21	0,719**	-0,027	0,661**	0,327*
Темп (NIHSS)	1-7	0,185	0,067	0,213*	0,117
	7-21	0,444**	0,048	0,570**	-0,019
	1-21	-0,057	-0,068	0,122	0,121
Бартел	1	-0,567**	-0,183	-0,498**	-0,151
	7	-0,683**	-0,18	-0,657**	-0,218*
	21	-0,759**	0,014	-0,677**	-0,334*
Рэнкин	1	0,560**	0,198*	0,507**	0,164
	7	0,663**	0,129	0,661**	0,223*
	21	0,765**	-0,035	0,682**	0,311*

Также концентрация АКТГ на 1-е сутки коррелировала с темпом восстановления во временном периоде с 7-х по 21-е сутки во всех рассматриваемых подгруппах (соответственно, для общей выборки, подгрупп благоприятного и неблагоприятного исходов, $r = 0,444$, $p < 0,01$, $r = 0,680$, $p < 0,01$ и $r = 0,477$, $p < 0,05$).

Таким образом, концентрация АКТГ на 1-е сутки тесно связана с выраженностью неврологического дефицита на том же сроке исследования, а также в исходе острого периода ИИ, т.е. имеет прогностическое значение. Уровень АКТГ при поступлении пациента в стационар также влияет на темп восстановления состояния пациента на протяжении всего острого периода, причем наибольшее – в его последние две недели.

Концентрация кортизола в периферической крови пациентов с ИИ на 1-е сутки исследования имела сходную динамику достоверных связей с клиническими показателями выраженности неврологического дефекта в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода. Так, тесные корреляционные связи были выявлены для количества баллов по шкале NIHSS на 1-е ($r = 0,485$, $p < 0,01$ и $r = 0,770$, $p < 0,01$, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода) и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,661$, $p < 0,01$ и $r = 0,792$, $p < 0,01$), для степени функциональных нарушений по шкале Бартел на 1-е ($r = -0,498$, $p < 0,01$ и $r = -0,772$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = -0,677$, $p < 0,01$ и $r = -0,792$, $p < 0,01$), по шкале Рэнкина на 1-е ($r = 0,507$, $p < 0,01$ и $r = 0,848$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,682$, $p < 0,01$ и $r = 0,861$, $p < 0,01$). Также достоверная связь была с темпом восстановления в интервале 1-7-е сутки ($r = 0,213$, $p < 0,05$ и $r = 0,390$, $p < 0,05$, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода) и 7-21-е сутки ($r = 0,570$, $p < 0,01$, $r = 0,779$, $p < 0,01$ и $r = 0,483$, $p < 0,05$, соответственно, для общей выборки, подгруппы благоприятного и неблагоприятного исходов) (Таблица 6.3).

Концентрация кортизола на 7-е сутки в общей выборке пациентов была связана со степенью функциональных нарушений по шкале Бартел (соответственно на 7-е и 21-е сутки, $r = -0,218$, $p < 0,05$ и $r = -0,334$, $p < 0,05$) и по шкале Рэнкина (соответственно, $r = 0,223$, $p < 0,05$ и $r = 0,311$, $p < 0,05$), а также баллом по шкале NIHSS на 21-е сутки ($r = 0,327$, $p < 0,05$).

Таким образом, концентрация кортизола также как и содержание АКТГ в крови пациентов с ИИ, измеренные на 1-е сутки, достоверно коррелирует с выраженностью неврологического и функционального дефицита на том же

сроке исследования и в исходе острого периода ИИ и имеет прогностическое значение. Уровень кортизола в периферической крови пациентов с ИИ при поступлении в стационар имеет более сильные связи (по сравнению с АКТГ) с темпом восстановления на протяжении всего острого периода.

Концентрация адреналина не связана с темпом восстановления пациентов в остром периоде ИИ, достоверные корреляционные связи выявлены лишь со статическими показателями. Так, его концентрация на 1-е сутки в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода коррелировало с выраженностью неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS на 1-е (соответственно, $r = -0,325$, $p < 0,01$ и $r = 0,452$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = -0,339$, $p < 0,01$ и $r = 0,502$, $p < 0,01$), степенью функциональных нарушений по шкале Бартел на 1-е ($r = 0,325$, $p < 0,01$ и $r = -0,456$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,346$, $p < 0,01$ и $r = -0,502$, $p < 0,01$), по шкале Рэнкина на 1-е ($r = -0,306$, $p < 0,01$ и $r = 0,467$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = -0,406$, $p < 0,01$ и $r = 0,371$, $p < 0,05$) (Таблица 6.4).

Таблица 6.4 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей клинического течения острого периода у пациентов с ИИ и концентраций адреналина и норадреналина в общей группе исследования на указанные в таблице сутки исследования

Шкала (баллы)	сутки	Адреналин (пг/мл)		Норадреналин (пг/мл)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
NIHSS	1	-0,325**	0,072	-0,103	0,05
	7	-0,323**	0,157	-0,304**	-0,109
	21	-0,339**	0,1	-0,444**	-0,12
Темп (NIHSS)	1-7	0,108	-0,039	-0,002	0,119
	7-21	0,098	-0,121	-0,211	-0,012
	1-21	0,329**	-0,194	0,005	0,016
Бартел	1	0,325**	-0,057	0,101	-0,051
	7	0,322**	-0,153	0,303**	0,098
	21	0,346**	-0,054	0,439**	0,136
Рэнкин	1	-0,306**	0,033	-0,071	0,032
	7	-0,289**	0,132	-0,286**	-0,079
	21	-0,406**	0,05	-0,395**	-0,168

Концентрация норадреналина на 1-е сутки в подгруппах пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ коррелировала с выраженностью неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS (соответственно, $r = -0,380$, $p < 0,05$ и $r = 0,317$, $p < 0,05$), а также со степенью функциональных нарушений по шкале Бартел ($r = 0,375$, $p < 0,05$ и $r = -0,344$, $p < 0,05$) и по шкале Рэнкина ($r = -0,383$, $p < 0,05$ и $r = 0,347$, $p < 0,01$) на том же сроке исследования и с теми же показателями на 21-е сутки в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода: балл по шкале NIHSS (соответственно, $r = -0,444$, $p < 0,01$ и $r = -0,415$, $p < 0,05$), по шкале Бартел ($r = 0,439$, $p < 0,01$ и $r = 0,415$, $p < 0,05$) и Рэнкина ($r = -0,395$, $p < 0,01$ и $r = -0,344$, $p < 0,05$). Содержание норадреналина на 1-е сутки было достоверно связано в подгруппе благоприятного исхода с темпом восстановления в интервале 7-21 сутки ($r = -0,343$, $p < 0,05$).

Таким образом, концентрации катехоламинов адреналина и норадреналина на 1-е сутки пребывания в стационаре связаны с выраженностью неврологического и функционального дефицита на том же сроке исследования и в исходе острого периода ИИ. Причем для адреналина выявлены различия в направлениях влияния его концентрации, а для концентрации норадреналина - зависимость обратная во всех случаях, т.е. с ростом уровня норадреналина отмечается меньшая выраженность неврологического и функционального дефицита. С темпом восстановления концентрация атехоламинов достоверно связана не была.

Корреляционные связи ИЛ-6 с показателями выраженности неврологического дефицита и функционального состояния в остром периоде ИИ были аналогичными таковым с концентрацией кортизола. Так, уровень ИЛ-6 на 1-е сутки исследования имел достоверные корреляционные связи с количеством баллов по шкале NIHSS на 1-е ($r = 0,452$, $p < 0,01$ и $r = 0,743$, $p < 0,01$, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода) и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,519$, $p < 0,01$ и $r = 0,777$, $p < 0,01$), со степенью функциональных нарушений по шкале Бартел на 1-е ($r = -0,466$,

$p < 0,01$ и $r = -0,745$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = -0,527$, $p < 0,01$ и $r = -0,777$, $p < 0,01$), по шкале Рэнкина на 1-е ($r = 0,475$, $p < 0,01$ и $r = 0,838$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,524$, $p < 0,01$ и $r = 0,850$, $p < 0,01$). Также выявлена достоверная связь с темпом восстановления в интервале 1-7-е сутки ($r = 0,200$, $p < 0,05$ и $r = 0,344$, $p < 0,05$, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода) и 7-21-е сутки ($r = 0,481$, $p < 0,01$ и $r = 0,764$, $p < 0,01$, соответственно).

Концентрация ИЛ-6 на 7-е сутки в общей выборке коррелировала с количеством баллов по шкале NIHSS ($r = 0,222$, $p < 0,05$) и Бартел ($r = -0,221$, $p < 0,05$) на том же сроке исследования, а также со степенью функциональных нарушений по шкалам Бартел ($r = 0,462$, $p < 0,05$) в подгруппе благоприятного исхода и Рэнкина ($r = -0,455$, $p < 0,05$) в подгруппе неблагоприятного исхода на 21-е сутки.

Таким образом, концентрация ИЛ-6 на 1 сутки исследования, наравне с таковыми АКТГ и кортизола, достоверно коррелировала с выраженностью неврологического и функционального дефицита на том же сроке исследования и в исходе острого периода ИИ. Содержание ИЛ-6 в периферической крови пациентов с ИИ при поступлении в стационар было достоверно связано с темпом восстановления на протяжении всего острого периода, причем наиболее сильные связи были выявлены для временного интервала наблюдения 7-21-е сутки.

В целом, результаты статистического анализа фактических данных являются основанием для заключения о наличии в остром периоде ИИ закономерного факта активации и наличия достоверных связей содержания гормонов стресс-реализующей системы в крови с клинические особенности течения и исходом острого периода ИИ. Это целесообразно учитывать при планировании лечебно-реабилитационных мероприятий у пациентов в остром периоде ИИ.

Результаты исследования на значительной выборке демонстрируют существенное усиление активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой стресс-реализующей системы у пациентов в остром

периоде ИИ пропорциональное росту неврологического и функционального дефицита. Однако, как прогностические маркеры функционального исхода острого периода ИИ указанные показатели использовать нецелесообразно, ввиду диапазона их изменения в рамках референтных значений.

6.3 Корреляции показателей выраженности состояний стресса, тревоги, депрессии и клинического течения острого периода ишемического инсульта

Учитывая наличие у пациентов с острым ИИ достоверных корреляций концентрации в периферической крови нейрогуморальных эффекторов стресс-реализующих систем с уровнем стресса по опроснику Reeder, тревоги, депрессии в баллах по шкале HADS для их экспресс-оценки, а так же с выраженностью неврологического и функционального дефицита в баллах по шкалам NIHSS, Бартел и Рэнкина, в настоящей работе проведен корреляционный анализ непосредственно между клиническими параметрами психоэмоционального состояния (выраженностью стресса, депрессии, тревоги) на 7-е и 21-е сутки и выраженностью неврологических проявлений ИИ во все сроки исследования.

Результаты исследования показали, что уровень депрессии на 7-е сутки пребывания пациента с ИИ в стационаре достоверно коррелирует с выраженностью неврологического дефицита в острейшем периоде ИИ, т.е. на 1-е сутки исследования (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = 0,554$, $p < 0,01$ и $r = 0,666$, $p < 0,01$), а также на 7-е (соответственно, для общей группы, подгрупп благоприятного и неблагоприятного исхода $r = 0,675$, $p < 0,01$, $r = 0,708$, $p < 0,01$ и $r = 0,401$, $p < 0,05$) и 21-е (соответственно, для общей выборки и группы благоприятного исхода $r = 0,723$, $p < 0,01$ и $r = 0,618$, $p < 0,01$) (Таблица 6.5).

Достоверными были корреляционные связи с уровнем функционального дефицита по шкале Бартел на 1-е сутки (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = -0,565$, $p < 0,01$ и $r = -0,669$, $p < 0,01$), на 7-е (соответственно, для общей группы, подгрупп

благоприятного и неблагоприятного исхода $r = -0,673$, $p < 0,01$, $r = -0,678$, $p < 0,01$ и $r = -0,404$, $p < 0,05$), на 21-е (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = -0,726$, $p < 0,01$ и $r = -0,618$, $p < 0,01$) и по шкале Рэнкина на 1-е сутки (соответственно, для общей группы исследования и подгруппы благоприятного исхода $r = 0,543$, $p < 0,01$ и $r = 0,725$, $p < 0,01$), на 7-е (соответственно, для общей группы, подгрупп благоприятного и неблагоприятного исхода $r = 0,646$, $p < 0,01$, $r = 0,649$, $p < 0,01$ и $r = 0,364$, $p < 0,05$), на 21-е (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = 0,760$, $p < 0,01$ и $r = 0,761$, $p < 0,01$).

Таблица 6.5 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей выраженности состояний тревоги, депрессии и клинического течения острого периода ИИ в общей группе пациентов на указанные в таблице сутки исследования

Шкала (баллы)	сутки	HADS Д (баллы)		HADS Т (баллы)	
		1 сутки	7 суток	1 сутки	7 суток
NIHSS	1	0,554**	0,520**	0,360**	0,521**
	7	0,675**	0,654**	0,377**	0,577**
	21	0,708**	0,763**	0,442**	0,616**
Темп (NIHSS)	1-7	0,058	0,087	0,193*	0,176
	7-21	0,455**	0,185	0,452**	0,216
	1-21	-0,005	0,048	0,161	0,163
Бартел	1	-0,565**	-0,526**	-0,373**	-0,526**
	7	-0,673**	-0,646**	-0,364**	-0,565**
	21	-0,726**	-0,772**	-0,469**	-0,630**
Рэнкин	1	0,543**	0,483**	0,347**	0,465**
	7	0,646**	0,557**	0,342**	0,452**
	21	0,760**	0,767**	0,496**	0,625**

С уровнем депрессии в исходе острого периода ИИ (на 21-е сутки исследования) также достоверно была связана выраженность неврологического дефицита во все сроки исследования: на 1-е сутки (для общей группы, подгруппы благоприятного и неблагоприятного исхода острого периода ИИ, соответственно, $r = 0,520$, $p < 0,01$, $r = 0,355$, $p < 0,05$ и $r = 0,407$, $p < 0,05$), на 7-е (соответственно, $r = 0,654$, $p < 0,01$, $r = 0,424$, $p < 0,05$ и $r =$

0,527, $p < 0,01$), на 21-е (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = 0,763$, $p < 0,01$ и $r = 0,387$, $p < 0,05$). Схожая картина наблюдалась и для уровня функционального дефицита по шкалам Бартел и Рэнкина. Для шкалы Бартел достоверные связи были выявлены на 1-е сутки (для общей группы, подгруппы благоприятного и неблагоприятного исхода, соответственно, $r = -0,526$, $p < 0,01$, $r = -0,357$, $p < 0,05$ и $r = -0,411$, $p < 0,05$), на 7-е (соответственно, $r = -0,646$, $p < 0,01$, $r = -0,408$, $p < 0,05$ и $r = -0,534$, $p < 0,01$), на 21-е (соответственно, для общей группы и подгруппы благоприятного исхода $r = -0,772$, $p < 0,01$ и $r = -0,387$, $p < 0,05$). С учетом шкалы Рэнкина достоверные связи были выявлены также во все сроки исследования: на 1-е сутки в общей группе и подгруппе неблагоприятного исхода (соответственно, $r = 0,483$, $p < 0,01$ и $r = 0,454$, $p < 0,05$), на 7-е и 21-е только в общей группе (соответственно, $r = 0,557$, $p < 0,01$ и $r = 0,767$, $p < 0,01$).

При построении зависимости выраженности неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS в 1-е сутки и уровня депрессии на 7-е сутки исследования обращала на себя внимание тенденция формирования двух совокупностей (рис. 6.7 А). Первую составляли пациенты с уровнем выраженности депрессии ниже 8 баллов по шкале HADS, но при этом у них отмечался широкий диапазон тяжести неврологического дефицита на 1 сутки, во второй - уровень неврологического дефицита в подавляющем большинстве случаев был больше 10, что сопровождалось наличием субклинически и клинически выраженной депрессии. Это дает основание для формулирования ориентировочного прогноза развития депрессии у пациентов с ИИ.

К 21-м суткам для уровня депрессии, а также во все сроки исследования для уровня тревоги такого разделения выявлено не было (Рисунок 6.7, Рисунок 6.8).

Выраженность тревоги в баллах по шкале HADS на 7-е сутки исследования достоверно коррелировала с выраженностью неврологического и функционального дефицита в баллах по шкалам NIHSS, Бартел и Рэнкина в

общей группе пациентов с ИИ и в подгруппе благоприятного исхода его острого периода во все сроки исследования.

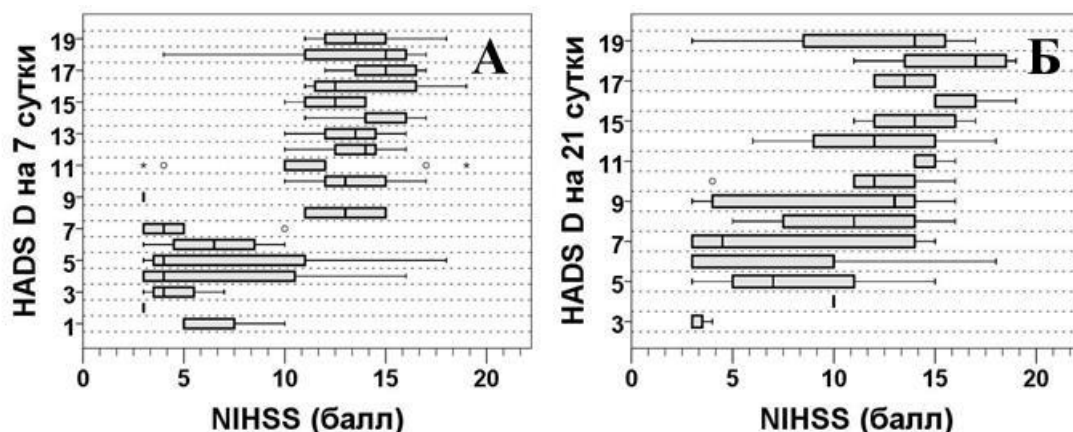


Рисунок 6.7 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от выраженности неврологического дефицита (в баллах по шкале NIHSS) в 1-е сутки исследования

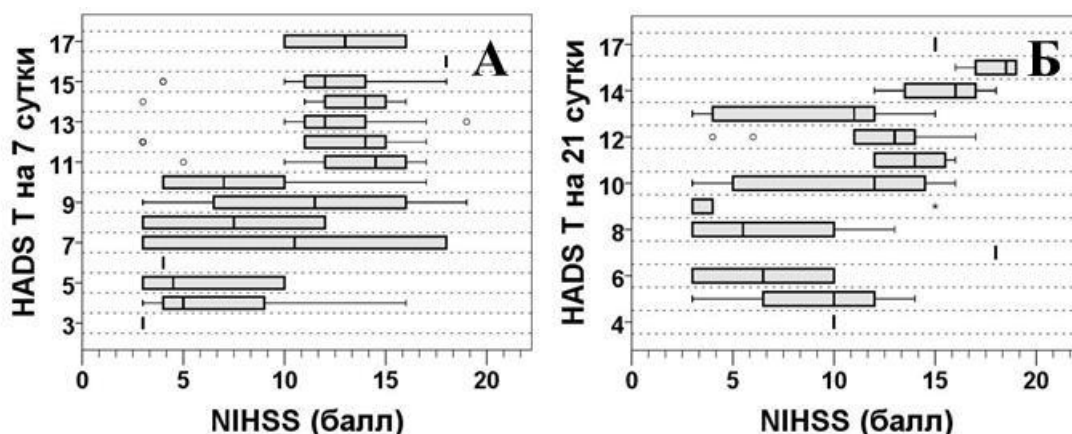


Рисунок 6.8 Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки тревоги HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от выраженности неврологического дефицита (в баллах по шкале NIHSS) в 1-е сутки исследования

Так для выраженности неврологического дефицита в баллах шкалы NIHSS были следующие показатели корреляции: на 1-е сутки, соответственно, для вышеуказанных выборок - $r = 0,360$ и $r = 0,570$, $p < 0,01$; на 7-е сутки $r = 0,377$ и $r = 0,497$, $p < 0,01$; на 21-е сутки $r = 0,418$ и $r = 0,444$, $p < 0,01$. Для выраженности функционального дефицита в баллах по шкале Бартел: на 1-е сутки, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного

исхода: $r = -0,373$ и $r = -0,573$, $p < 0,01$; на 7-е сутки $r = -0,364$ и $r = -0,473$, $p < 0,01$; на 21-е сутки $r = -0,469$ и $r = -0,444$, $p < 0,01$. Корреляционные связи с количеством баллов по шкалам Рэнкина и Бартел для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода были схожи: на 1-е сутки $r = 0,347$ и $r = 0,587$, $p < 0,01$; на 7-е сутки $r = 0,342$, $p < 0,01$ и $r = 0,410$, $p < 0,05$; на 21-е сутки $r = 0,496$ и $r = 0,560$, $p < 0,01$ (Таблица 6.5).

С выраженностью тревоги в баллах по шкале HADS в исходе острого периода ИИ достоверно было связано количество баллов по шкале NIHSS в общей выборке и подгруппе неблагоприятного исхода на 1-е (соответственно, $r = 0,521$, $p < 0,01$ и $r = 0,528$, $p < 0,01$) и 7-е сутки ($r = 0,577$, $p < 0,01$ и $r = 0,494$, $p < 0,05$), на 21-е только в общей выборке ($r = 0,616$, $p < 0,01$). Аналогичные результаты были получены для уровня функционального дефицита в баллах по шкале Бартел: достоверные корреляции получены на 1-е ($r = 0,521$, $p < 0,01$ и $r = 0,528$, $p < 0,01$), 7-е сутки ($r = 0,577$, $p < 0,01$ и $r = 0,494$, $p < 0,05$, соответственно для общей выборки и подгруппы неблагоприятного исхода) и 21-е сутки в общей выборке ($r = 0,616$, $p < 0,01$). Достоверные корреляции для уровня функционального дефицита в баллах по шкале Рэнкина: на 1-е для общей выборки и подгруппы неблагоприятного исхода (соответственно, $r = 0,465$, $p < 0,01$ и $r = 0,512$, $p < 0,01$), 7-е сутки ($r = 0,452$, $p < 0,01$ и $r = 0,417$, $p < 0,05$) и 21-е сутки в общей выборке ($r = 0,625$, $p < 0,01$) (Таблица 6.5).

Таким образом, выраженность депрессии и тревоги у пациентов в остром периоде ИИ имеет достоверные прямые связи с выраженностью неврологического и функционального дефицита во все сроки исследования. Уровень депрессии в баллах по шкале HADS для их экспресс-оценки можно использовать как прогностический ориентир для исхода острого периода ИИ (12 баллов - предиктор неблагоприятного исхода), с другой стороны тяжесть неврологического и функционального дефицита при поступлении пациента в стационар (балл по шкале NIHSS больше 10) является предиктором развития депрессии в течение острого периода ИИ.

Уровень психоэмоционального стресса по опроснику Reeder также был связан с выраженностью неврологического и функционального дефицита во все сроки исследования, однако, по сравнению с уровнем тревоги и депрессии корреляционных связей было меньше и их коэффициенты были более низкими. Так, уровень психоэмоционального стресса на 7-е сутки коррелировал с выраженностью неврологического дефицита по шкале NIHSS на 1-е сутки в общей группе ($r = -0,266$, $p < 0,01$), на 7-е в общей группе и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = -0,213$, $p < 0,05$ и $r = 0,414$, $p < 0,05$), на 21-е также в общей группе и в подгруппе благоприятного исхода ($r = -0,406$, $p < 0,01$ и $r = 0,390$, $p < 0,05$).

Для уровня функционального дефицита в баллах по шкале Бартел были схожие результаты: на 1-е сутки в общей выборке ($r = 0,258$, $p < 0,01$), на 7-е ($r = 0,215$, $p < 0,05$ и $r = -0,431$, $p < 0,01$, соответственно, в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода), на 21-е также ($r = 0,315$, $p < 0,05$ и $r = -0,390$, $p < 0,05$). По шкале Рэнкина имели место некоторые отличия: на 1-е сутки достоверные связи выявлены в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = -0,230$, $p < 0,05$ и $r = 0,369$, $p < 0,05$), на 7-е в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,452$, $p < 0,01$), на 21-е в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода ($r = -0,329$, $p < 0,01$ и $r = 0,409$, $p < 0,05$).

Уровень психоэмоционального стресса по опроснику Reeder в исходе острого периода ИИ имел достоверную корреляционную зависимость с выраженностью неврологического дефицита по шкале NIHSS на 1-е сутки в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода ($r = -0,582$, $p < 0,01$ и $r = 0,642$, $p < 0,01$), на 7-е сутки в тех же подгруппах ($r = -0,514$, $p < 0,01$ и $r = 0,513$, $p < 0,01$), на 21-е только в подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ ($r = -0,486$, $p < 0,01$). Для уровня функционального дефицита в баллах по шкале Бартел были схожие результаты: на 1-е сутки в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода ($r = 0,583$, $p < 0,01$ и $r = -0,587$, $p < 0,01$), на 7-е сутки в тех же подгруппах ($r = 0,511$, $p < 0,01$ и $r = -0,506$,

$p < 0,01$), на 21-е только в подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ ($r = 0,486$, $p < 0,01$); равно как и по шкале Рэнкина: на 1-е сутки в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода ($r = -0,564$, $p < 0,05$ и $r = 0,596$, $p < 0,01$), на 7-е сутки в тех же подгруппах ($r = -0,537$, $p < 0,01$ и $r = 0,447$, $p < 0,05$), на 21-е в подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ ($r = -0,549$, $p < 0,01$) (Таблица 6.5).

Таким образом, уровень психоэмоционального стресса в баллах по опроснику Reeder достоверно, но более слабо по сравнению с уровнем тревоги и депрессии, был связан с выраженностью неврологического и функционального дефицита. Между подгруппами благоприятного и неблагоприятного исхода при сопоставимой силе связей наблюдалось их противоположное направление: у пациентов из подгруппы благоприятного исхода с ростом уровня стресса выраженность неврологического дефицита уменьшалась, а у пациентов из подгруппы неблагоприятного исхода – увеличивалась. Это дает возможность дифференциального подхода к лечению и реабилитации таких пациентов.

Достоверные связи темпа восстановления у пациентов с острым ИИ в интервале 1-7-е сутки были выявлены в подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ с уровнем депрессии на 7-е ($r = 0,424$, $p < 0,01$), в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода с уровнем тревоги на 7-е ($r = 0,193$, $p < 0,05$ и $r = 0,505$, $p < 0,01$), в подгруппе благоприятного исхода с уровнем стресса на 21-е сутки ($r = -0,395$, $p < 0,05$). Темп восстановления в интервале 7-21-е сутки был ассоциирован в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода с уровнем депрессии на 7-е (соответственно, $r = 0,455$, $p < 0,01$ и $r = 0,733$, $p < 0,01$) и в подгруппе благоприятного исхода на 21-е ($r = 0,429$, $p < 0,01$); с уровнем тревоги в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода на 7-е (соответственно, $r = 0,452$, $p < 0,01$ и $r = 0,543$, $p < 0,01$) и в подгруппе неблагоприятного исхода на 21-е ($r = 0,590$, $p < 0,01$); с уровнем психоэмоционального стресса в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода на 7-е (соответственно, $r = 0,330$, $p < 0,01$ и $r = 0,455$,

$p < 0,01$), в подгруппах благоприятного неблагоприятного исхода острого периода ИИ на 21-е (соответственно, $r = -0,528$, $p < 0,01$ и $r = 0,449$, $p < 0,05$) (Таблица 6.5).

Таким образом, с темпом восстановления состояния пациентов с острым ИИ наиболее сильно связан показатель выраженности депрессии. Уровень психоэмоционального стресса по-разному влияет на темп восстановления в подгруппах благоприятного неблагоприятного исхода острого периода ИИ: в подгруппе благоприятного исхода с усилением стресса темп восстановления увеличивается, а в группе неблагоприятного – уменьшается.

С уровнем депрессии, тревоги и психоэмоционального стресса были связаны значения показателей системного воспалительного ответа, а именно числа лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема периферической крови. Эти показатели представляют интерес для исследования, т.к. их определение относится к рутинным исследованиям у пациентов с ИИ. Уровень лейкоцитов на 1-е сутки исследования достоверно коррелировал в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода с выраженностью депрессии (соответственно, $r = 0,353$, $p < 0,01$ и $r = 0,334$, $p < 0,05$) и тревоги ($r = 0,344$, $p < 0,01$ и $r = 0,372$, $p < 0,05$), а также психоэмоционального стресса в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,420$, $p < 0,05$) на 7-е сутки; с выраженностью депрессии в подгруппе благоприятного исхода на 21-е ($r = 0,400$, $p < 0,05$). Количество лейкоцитов в единице объема крови на 7-е сутки исследования было связано с уровнем депрессии в общей выборке на том же сроке ($r = 0,309$, $p < 0,01$) и в подгруппе благоприятного исхода на 21-е сутки ($r = 0,342$, $p < 0,05$), с уровнем тревоги на 7-е сутки (соответственно, в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода $r = 0,297$, $p < 0,01$ и $r = 0,458$, $p < 0,01$) и на 21-е в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,450$, $p < 0,01$), с уровнем психоэмоционального стресса на 21-е в подгруппе благоприятного исхода ($r = -0,336$, $p < 0,05$). Уровень лейкоцитов на 21-е сутки исследования достоверно коррелировал в общей выборке с выраженностью депрессии на 7-е и 21-е

сутки (соответственно, $r = 0,260$, $p < 0,05$ и $r = 0,393$, $p < 0,01$), с уровнем психоэмоционального стресса на 7-е в общей выборке и в подгруппе неблагоприятного исхода (соответственно, $r = -0,258$, $p < 0,05$ и $r = -0,436$, $p < 0,05$), тревоги на 21-е сутки в общей выборке ($r = 0,360$, $p < 0,01$) (Таблица 6.6).

Таблица 6.6 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) показателей системного воспалительного ответа и показателей выраженности состояний стресса, тревоги, депрессии у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице текущие сутки исследования

Показатель	сутки	HADS Д (баллы)		HADS Т (баллы)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
Лейкоциты ($10^9/\text{л}$)	1	0,353**	0,186	0,344**	0,165
	7	0,309**	0,137	0,297**	0,233
	21	0,260*	0,393**	0,115	0,360**
Лимфоциты ($10^9/\text{л}$)	1	0,109	-0,111	0,187	-0,086
	7	0,508**	0,623**	0,351**	0,632**
	21	0,048	0,107	0,019	0,154
Лимфоциты (%)	1	-0,312**	-0,371**	-0,202*	-0,370**
	7	0,310**	0,641**	0,159	0,537**
	21	-0,412**	-0,553**	-0,222	-0,424**
ИЛ-6 (пг/мл)	1	0,375**	0,342**	0,369**	0,273*
	7	0,595**	0,661**	0,398**	0,584**
	21	0,578**	0,497**	0,470**	0,453**

Абсолютное количество лимфоцитов в единице объема периферической крови на 1-е сутки исследования коррелировало с выраженностью депрессии в подгруппе благоприятного исхода на 7-е и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,418$, $p < 0,05$ и $r = 0,362$, $p < 0,05$), с уровнем психоэмоционального стресса на 7-е в общей группе и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = 0,233$, $p < 0,05$ и $r = 0,499$, $p < 0,01$), а на 21-е только в подгруппе благоприятного исхода ($r = -0,344$, $p < 0,05$). Количество лимфоцитов на 7-е сутки исследования имело большее число корреляционных связей по сравнению с 1-ми. Так, достоверные связи прослеживались в общей группе и в подгруппе благоприятного исхода с

уровнем депрессии на 7-е (соответственно, $r = 0,508$, $p < 0,01$ и $r = 0,333$, $p < 0,05$) и 21-е сутки ($r = 0,623$, $p < 0,01$ и $r = 0,369$, $p < 0,05$), с уровнем тревоги на 7-е ($r = 0,351$, $p < 0,01$ и $r = 0,456$, $p < 0,01$), а на 21-е во всех рассматриваемых подгруппах (соответственно, в общей группе, в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода $r = 0,632$, $p < 0,01$, $r = 0,363$, $p < 0,05$ и $r = 0,462$, $p < 0,05$).

Таким образом, абсолютное содержание лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема периферической крови пациентов с острым ИИ было связано с выраженностью у них депрессии и тревоги.

В целом, результаты статистического анализа полученных фактических данных дают основание заключить, что в остром периоде ИИ уровень стресса, тревоги, депрессии связан с особенностями клинического течения острого периода ИИ. При этом наиболее сильные связи были с выраженностью депрессии по шкале экспресс-оценки тревоги и депрессии HADS. Это дает основание для осуществления перекрестного прогнозирования вышеуказанных показателей, а также для возможности разработки новых алгоритмов терапии пациентов в остром периоде ИИ с учетом прогноза развития депрессивного расстройства исходя из состояния пациента при поступлении в стационар (включая неврологический статус, общее число лейкоцитов и лимфоциты крови) и влияния этого расстройства на функциональный исход острого периода ИИ.

6.4 Корреляции концентрации гормонов стресс-реализующей и регулирующих процессы апоптоза и воспаления систем

Для решения поставленной задачи поиска связей между показателями концентраций нейрогуморальных эффекторов стресс-реализующих и регулирующих апоптоз систем проводили корреляционный анализ величин их показателей во все сроки исследования.

С показателями состояния регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α концентрация АКТГ достоверно коррелировала лишь на 1-е сутки исследования. Так, в общей группе пациентов с ИИ выявлены связи

концентрации АКТГ на 1-е сутки с концентрацией sFas и с показателем sFasL-эффективности на 7-е сутки исследования (соответственно, $r = 0,328$, $p < 0,01$ и $r = 0,441$, $p < 0,01$); с концентрацией sFasL на 1-е ($r = 0,365$, $p < 0,01$), 7-е ($r = 0,580$, $p < 0,01$) и 21-е ($r = 0,305$, $p < 0,05$) сутки; с соотношением концентраций sFasL и sFas ($r = 0,597$, $p < 0,01$, $r = 0,645$, $p < 0,01$ и $r = 0,519$, $p < 0,01$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки) и абсолютным содержанием CD3CD95-позитивных лимфоцитов также во все сроки исследования ($r = 0,449$, $p < 0,01$, $r = -0,191$, $p < 0,05$ и $r = 0,290$, $p < 0,05$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки) (Таблица 6.7).

Таблица 6.7 Коэффициенты корреляции и их p-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации АКТГ и показателей регулирующей апоптоз системы Fas у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования

Показатель	сутки	АКТГ (пг/мл)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sFas (пг/мл)	1	0,086	0,111	-0,017
	7	0,328**	0,068	0,095
	21	0,112	0,226	0,152
sFasL (пг/мл)	1	0,365**	0,112	0,024
	7	0,580**	-0,005	-0,04
	21	0,305*	0,003	0,017
sFasL/sFas (д. ед.)	1	0,597**	0,169	-0,04
	7	0,645**	-0,039	-0,226
	21	0,519**	-0,219	-0,181
CD3CD95+ лимфоциты (10^9/л)	1	0,449**	0,217*	-0,051
	7	-0,191*	0,139	0,113
	21	0,290*	-0,280*	0,096
sFasL- эффективность (л/10^9)	1	-0,013	-0,114	-0,033
	7	0,441**	-0,12	-0,211
	21	0,054	0,211	-0,23

Для регулирующей апоптоз системы TNF α в общей выборке были достоверными связи с концентрацией АКТГ на 1-е сутки по следующим параметрам: концентрация sTNF-R1 во все сроки исследования ($r = 0,214$,

$p < 0,01$, $r = 0,284$, $p < 0,01$ и $r = 0,560$, $p < 0,01$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), концентрация $\text{TNF}\alpha$ также во все сроки исследования ($r = 0,525$, $p < 0,01$, $r = 0,292$, $p < 0,01$ и $r = 0,312$, $p < 0,05$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), соотношение концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 на 1-е ($r = 0,199$, $p < 0,05$) и 21-е ($r = -0,321$, $p < 0,05$) сутки исследования (Таблица 6.8).

Таблица 6.8 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации АКТГ и показателей регулирующей апоптоз системы $\text{TNF}\alpha$ у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования

Показатель	сутки	АКТГ (пг/мл)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sTNF-R1 (пг/мл)	1	0,214**	0,001	0,066
	7	0,284**	-0,009	0,028
	21	0,560**	0,01	-0,107
$\text{TNF}\alpha$ (пг/мл)	1	0,525**	0,086	0,062
	7	0,292**	0,171	-0,015
	21	0,312*	0,119	0,079
$\text{TNF}\alpha/\text{sTNF-R1}$ (д.ед.)	1	0,199*	0,108	-0,069
	7	-0,027	0,191	-0,119
	21	-0,321*	0,228	0,18

В подгруппе пациентов с благоприятным исходом концентрация АКТГ на 1-е сутки коррелировала со следующими показателями регулирующих апоптоз систем Fas и $\text{TNF}\alpha$: с концентрацией sFas на 7-е сутки ($r = 0,382$, $p < 0,05$), с концентрацией sFasL на 7-е ($r = 0,373$, $p < 0,05$) и 21-е ($r = 0,356$, $p < 0,05$) сутки, с соотношением концентраций FasL и sFas на 21-е сутки ($r = 0,421$, $p < 0,05$), с показателем sFasL-эффективности во все сроки исследования ($r = -0,582$, $p < 0,01$, $r = -0,503$, $p < 0,01$ и $r = 0,365$, $p < 0,05$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), с абсолютным содержанием CD3CD95-позитивных лимфоцитов на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,749$, $p < 0,01$ и $r = 0,486$, $p < 0,01$); с концентрацией sTNF-R1 во все сроки исследования ($r = 0,640$, $p < 0,01$, $r = 0,599$, $p < 0,01$ и $r = 0,601$, $p < 0,01$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), с концентрацией $\text{TNF}\alpha$ также

на 1-е ($r = 0,757$, $p < 0,01$), 7-е ($r = 0,683$, $p < 0,01$) и 21-е ($r = 0,519$, $p < 0,01$) сутки, с соотношением концентраций TNF α и sTNF-R1 на 21-е сутки ($r = 0,394$, $p < 0,05$). В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ концентрация АКТГ на 1-е сутки коррелировала с концентрацией sFasL и соотношением концентраций FasL и sFas на 7-е сутки (соответственно, $r = 0,374$, $p < 0,05$ и $r = 0,705$, $p < 0,01$), с концентрацией sTNF-R1 на 1-е и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,341$, $p < 0,05$ и $r = 0,621$, $p < 0,01$), с концентрацией TNF α на 1-е ($r = 0,387$, $p < 0,01$) и соотношением концентраций TNF α и sTNF-R1 на 21-е сутки ($r = -0,540$, $p < 0,01$) (Таблица 6.7, Таблица 6.8).

Таким образом, с показателями состояния регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α тесно связана концентрация АКТГ лишь на 1-е сутки исследования. Наиболее сильная корреляционная связь у этого параметра с величиной соотношения концентраций sFasL и sFas в исходе первой недели и всего острого периода ИИ.

Концентрация кортизола, также как и АКТГ, лишь на 1-е сутки имела достоверные корреляционные связи с показателями состояния регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α . Были выявлены достоверные корреляционные связи с рядом показателей. Концентрация растворимого рецептора sFas лишь на 7-е сутки была достоверно связана с концентрацией кортизола на 1-е сутки исследования в общей группе пациентов в остром периоде ИИ ($r = 0,346$, $p < 0,01$) и в подгруппе пациентов с его благоприятным исходом (соответственно $r = 0,479$, $p < 0,01$) (Таблица 6.9).

Достоверные связи были выявлены также с концентрацией sFasL на 1-е и 7-е сутки исследования (соответственно $r = 0,335$, $p < 0,01$ и $r = 0,479$, $p < 0,01$) в общей выборке, на 7-е и 21-е (соответственно $r = 0,363$, $p < 0,05$ и $r = 0,338$, $p < 0,05$) в подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ и в подгруппе неблагоприятного исхода с содержанием sFasL на 21 сутки ($r = -0,552$, $p < 0,01$). С соотношением концентраций FasL и sFas наблюдалось максимальное количество достоверных связей среди изучаемых в работе показателей системы Fas. Так, с концентрацией кортизола на 1-е сутки

коррелировали показатели соотношения sFasL и sFas в общей выборке на 1-е ($r = 0,440$, $p < 0,01$), 7-е ($r = 0,411$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,355$, $p < 0,01$); в подгруппе благоприятного исхода на 7-е ($r = -0,386$, $p < 0,05$) и 21-е ($r = 0,372$, $p < 0,05$); в подгруппе неблагоприятного во все сроки исследования (соответственно, для 1-х, 7-х и 21-х суток $r = 0,279$, $p < 0,05$, $r = 0,556$, $p < 0,01$ и $r = -0,538$, $p < 0,01$). Величина этого параметра в подгруппе неблагоприятного исхода также была достоверно связано с концентрацией кортизола на 7 сутки ($r = -0,456$, $p < 0,05$), что является исключением из заявленного выше положения о том, что кортизол лишь на 1-е сутки может оказывать влияние на показатели регулирующих апоптоз систем.

Таблица 6.9 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации кортизола и показателей регулирующей апоптоз системы Fas у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования

Показатель	сутки	Кортизол (нмоль/л)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sFas (пг/мл)	1	0,145	-0,025	-0,055
	7	0,346**	0,082	0,158
	21	0,156	0,005	0,102
sFasL (пг/мл)	1	0,335**	0,071	0,001
	7	0,479**	0,112	0,123
	21	0,225	0,105	0,066
sFasL/sFas (д. ед.)	1	0,440**	0,232*	0,158
	7	0,411**	0,161	0,052
	21	0,355**	0,182	0,076
CD3CD95+ лимфоциты ($10^9/л$)	1	0,455**	0,128	0,133
	7	-0,135	-0,035	-0,007
	21	0,169	0,27	-0,103
sFasL- эффективность ($л/10^9$)	1	-0,14	0,073	0,039
	7	0,297**	0,068	0,03
	21	0,055	-0,178	0,187

В подгруппе благоприятного исхода корреляционные связи концентрации кортизола на 1-е сутки исследования были схожими у

показателей абсолютного числа CD3CD95-позитивных лимфоцитов и sFasL-эффективности на 1-е и 7-е. Так, для первого показателя $r = 0,655$, $p < 0,01$ и $r = 0,329$, $p < 0,05$, а для второго - $r = -0,586$, $p < 0,01$ и $r = -0,501$, $p < 0,01$, соответственно на 1-е и 7-е сутки. Достоверные корреляционные связи с этими показателями в общей выборке отмечены с абсолютным числом CD3CD95-позитивных лимфоцитов на 1-е сутки ($r = 0,455$, $p < 0,01$) и с sFasL-эффективностью на 7-е ($r = 0,297$, $p < 0,01$).

Зависимости концентраций кортизола на 1-е сутки исследования и эффекторов системы TNF α были сходными в общей выборке пациентов с ИИ и в подгруппе благоприятного исхода его острого периода (Таблица 6.10). Так достоверные связи были выявлены с концентрацией sTNF-R1 на 1-е ($r = 0,273$, $p < 0,01$ и $r = 0,716$, $p < 0,01$ здесь и далее, соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода), 7-е ($r = 0,514$, $p < 0,01$ и $r = 0,762$, $p < 0,01$) и 21-е сутки исследования ($r = 0,687$, $p < 0,01$ и $r = 0,560$, $p < 0,01$). **Таблица 6.10 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации кортизола и показателей регулирующей апоптоз системы TNF α у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования**

Показатель	сутки	Кортизол (нмоль/л)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sTNF-R1 (пг/мл)	1	0,214**	0,001	0,066
	7	0,284**	-0,009	0,028
	21	0,560**	0,01	-0,107
TNF α (пг/мл)	1	0,525**	0,086	0,062
	7	0,292**	0,171	-0,015
	21	0,312*	0,119	0,079
TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	1	0,199*	0,108	-0,069
	7	-0,027	0,191	-0,119
	21	-0,321*	0,228	0,18

Для концентрации sTNF-R1 на 21-е сутки в подгруппе неблагоприятного исхода также прослеживалась достоверная корреляционная связь ($r = 0,807$, $p < 0,01$). С концентрацией TNF α

прослеживались аналогичные зависимости для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода: на 1-е ($r = 0,597$, $p < 0,01$ и $r = 0,791$, $p < 0,01$), 7-е ($r = 0,435$, $p < 0,01$ и $r = 0,772$, $p < 0,01$) и 21-е сутки исследования ($r = 0,523$, $p < 0,01$ и $r = 0,533$, $p < 0,01$). В подгруппе неблагоприятного исхода также были достоверные корреляционные связи между концентрацией кортизола на 1-е сутки и концентрацией TNF α на 1-е ($r = 0,371$, $p < 0,01$) и 21-е ($r = 0,616$, $p < 0,01$) сутки исследования. Значение соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 на 7-е сутки и кортизола на 1-е сутки исследования достоверно коррелировали во всех описываемых группах пациентов ($r = -0,191$, $p < 0,05$, $r = -0,439$, $p < 0,01$ и $r = -0,417$, $p < 0,05$ соответственно, для общей выборки, подгрупп благоприятного и неблагоприятного исхода), на 1-е сутки лишь в подгруппе неблагоприятного исхода ($r = -0,276$, $p < 0,05$), на 21-е - благоприятного ($r = 0,611$, $p < 0,01$) и неблагоприятного ($r = -0,667$, $p < 0,01$) исходов.

Таким образом, концентрация кортизола имела схожие корреляционные связи с показателями систем Fas и TNF α , что и АКТГ.

Значение концентрации норадреналина на 1-е сутки исследования достоверно коррелировало с концентрацией sFasL на 7-е в общей выборке ($r = -0,222$, $p < 0,05$). Также в общей выборке достоверными были связи с соотношениями концентраций sFasL и sFas во все сроки исследования ($r = -0,178$, $p < 0,05$, $r = -0,225$, $p < 0,05$ и $r = -0,293$, $p < 0,05$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), со значением абсолютного числа CD3CD95-позитивных лимфоцитов на 7-е и 21-е сутки (соответственно $r = 0,254$, $p < 0,01$ и $r = -0,256$, $p < 0,05$), с показателем FasL-эффективности на 7-е сутки ($r = -0,278$, $p < 0,01$). Концентрация норадреналина на 21-е сутки исследования была связана с концентрацией sFas на том же сроке исследования в общей выборке и в подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ (соответственно $r = -0,375$, $p < 0,05$ и $r = -0,621$, $p < 0,01$), а также с величиной FasL-эффективности на 21-е сутки в подгруппе пациентов с благоприятным исходом ИИ ($r = -0,278$, $p < 0,01$).

Для системы TNF α достоверные связи были выявлены с концентрацией норадреналина на 1-е и 21-е сутки исследования. Так с концентрацией норадреналина на 1-е сутки коррелировала концентрация sTNF-R1 на том же сроке в общей выборке и в подгруппе неблагоприятного исхода (соответственно, $r = -0,421$, $p < 0,01$ и $r = -0,444$, $p < 0,01$), на 7-е сутки в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода (соответственно $r = -0,430$, $p < 0,01$ и $r = 0,455$, $p < 0,01$), на 21-е в общей выборке ($r = -0,288$, $p < 0,05$). С концентрацией TNF α на 1-е сутки достоверные связи были во всех рассматриваемых подгруппах ($r = -0,432$, $p < 0,01$, $r = -0,372$, $p < 0,05$ и $r = -0,445$, $p < 0,01$ соответственно для общей выборки, групп благоприятного и неблагоприятного исхода), а на 7-е в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода (соответственно $r = -0,376$, $p < 0,05$ и $r = 0,464$, $p < 0,01$). Соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 в подгруппе неблагоприятного исхода в 1-е сутки имело прямую зависимость от концентрации норадреналина на том же сроке исследования ($r = 0,418$, $p < 0,01$), а в подгруппе благоприятного – зависимость была обратная для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 на 21-е сутки ($r = -0,376$, $p < 0,05$).

Концентрация норадреналина на 21-е сутки исследования ассоциировала в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода с концентрациями на том же сроке sTNF-R1 (соответственно, $r = -0,357$, $p < 0,05$ и $r = -0,468$, $p < 0,05$) и TNF α (соответственно, $r = -0,366$, $p < 0,05$ и $r = -0,553$, $p < 0,05$).

С концентрацией адреналина в периферической крови на 1-е сутки исследования достоверно коррелировали следующие показатели системы Fas: концентрация sFas на 1-е и на 21-е сутки в группе пациентов с благоприятным исходом (соответственно, $r = 0,454$, $p < 0,01$ и $r = 0,424$, $p < 0,01$), концентрация sFasL в общей выборке на 1-е и 7-е сутки исследования (соответственно, $r = -0,242$, $p < 0,01$ и $r = -0,406$, $p < 0,01$) и в подгруппе благоприятного исхода на 1-е и 21-е сутки (соответственно $r = 0,357$, $p < 0,05$ и

$r = 0,374$, $p < 0,05$). Значение соотношения концентраций sFasL и sFas во все сроки исследования в общей выборке коррелировало с концентрацией адреналина на 1-е сутки (соответственно, для 1-х, 7-х и 21-х суток $r = -0,585$, $p < 0,01$, $r = -0,600$, $p < 0,01$ и $r = -0,375$, $p < 0,01$), а показатель sFasL-эффективности – в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода на 1-е (соответственно, $r = -0,296$, $p < 0,01$ и $r = -0,408$, $p < 0,05$) и 7-е сутки исследования (соответственно, $r = -0,556$, $p < 0,01$ и $r = -0,375$, $p < 0,05$). Со значением абсолютного числа CD3CD95-позитивных лимфоцитов достоверные корреляционные связи были выявлены в подгруппе благоприятного исхода на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,337$, $p < 0,05$ и $r = 0,356$, $p < 0,05$), а в общей выборке на 7-е и 21-е (соответственно, $r = 0,349$, $p < 0,01$ и $r = -0,387$, $p < 0,01$).

С показателями системы $\text{TNF}\alpha$ в периферической крови достоверные корреляционные связи были выявлены с концентрацией адреналина, полученной лишь на 1-е сутки исследования. Концентрация sTNF-R1 была связана с вышеуказанным показателем в общей выборке на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,164$, $p < 0,05$ и $r = 0,310$, $p < 0,01$), в подгруппе неблагоприятного исхода на 1-е сутки ($r = 0,287$, $p < 0,05$), благоприятного – на 7-е ($r = 0,437$, $p < 0,01$). Для концентрации $\text{TNF}\alpha$ достоверные связи выявлены лишь в подгруппе благоприятного исхода на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,390$, $p < 0,05$ и $r = 0,376$, $p < 0,05$). С концентрацией адреналина на 1-е сутки была достоверно связана величина соотношения концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 в общей выборке во все сроки исследования (соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки $r = -0,399$, $p < 0,01$, $r = -0,288$, $p < 0,01$ и $r = 0,544$, $p < 0,01$), а в подгруппе благоприятного исхода лишь на 21-е ($r = 0,379$, $p < 0,05$).

Таким образом, концентрации адреналина и норадреналина в периферической крови имели схожие картины связей с показателями регулирующих апоптоз систем Fas (для показателей этой системы связи были более выраженными) и $\text{TNF}\alpha$, причем для адреналина достоверных связей

было больше. Характер связей был обратным по сравнению с АКТГ и кортизолом.

Концентрация ИЛ-6 в периферической крови пациентов с ИИ, определенная на 1-е сутки исследования, ассоциировала с большинством рассмотренных выше регулирующих апоптоз показателей систем Fas и TNF α . Так, с концентрацией sFas прослеживались достоверные положительные корреляционные связи в общей выборке на 1-е ($r = 0,206$, $p < 0,05$) и 7-е сутки ($r = 0,324$, $p < 0,01$) пребывания пациентов с ИИ в стационаре и в подгруппе благоприятного исхода на 7-е ($r = 0,492$, $p < 0,01$); с концентрацией sFasL в общей выборке на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,324$, $p < 0,01$ и $r = 0,340$, $p < 0,01$), в подгруппе благоприятного исхода на 7-е ($r = 0,385$, $p < 0,05$) и 21-е ($r = 0,346$, $p < 0,05$) (Таблица 6.11).

Таблица 6.11 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации ИЛ-6 и показателей регулирующей апоптоз системы Fas у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования

Показатель	сутки	ИЛ-6 (пг/мл)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sFas (пг/мл)	1	0,206*	0,176	0,035
	7	0,324**	0,206	-0,04
	21	0,19	0,16	-0,047
sFasL (пг/мл)	1	0,324**	0,235*	0,164
	7	0,340**	0,155	0,03
	21	0,241	0,189	-0,018
sFasL/sFas (д. ед.)	1	0,298**	0,225*	0,290*
	7	0,179	0,071	0,056
	21	0,284*	0,116	0,054
CD3CD95+ лимфоциты (10^9 /л)	1	0,353**	0,149	0,118
	7	-0,038	0,034	-0,032
	21	0,037	0,019	0,191
sFasL- эффективность (л/ 10^9)	1	-0,133	0,02	0,111
	7	0,129	-0,033	0,054
	21	0,14	0,074	-0,156

Значение соотношения концентраций sFasL и sFas было связано с рассматриваемым параметром в общей выборке на 1-е и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,298$, $p < 0,01$ и $r = 0,284$, $p < 0,05$), в подгруппе благоприятного исхода на 7-е и 21-е (соответственно, $r = -0,361$, $p < 0,05$ и $r = 0,367$, $p < 0,05$), при этом показатель sFasL-эффективности имел достоверные корреляции лишь в подгруппе благоприятного исхода на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = -0,627$, $p < 0,01$ и $r = -0,611$, $p < 0,01$). Со значением абсолютного числа CD3CD95-позитивных лимфоцитов достоверные связи выявлены в подгруппе благоприятного исхода на 1-е и 7-е сутки (соответственно, $r = 0,705$, $p < 0,01$ и $r = 0,422$, $p < 0,05$), а в общей выборке только на 1-е ($r = 0,353$, $p < 0,01$).

Прослеживались сходные закономерности корреляции концентрации ИЛ-6 на 1-е сутки острого периода ИИ с концентрациями sTNF-R1 и TNF α (Таблица 6.12). В подгруппе благоприятного исхода корреляционные связи были достоверными во все сроки исследования как для sTNF-R1 ($r = 0,672$, $p < 0,01$, $r = 0,714$, $p < 0,01$ и $r = 0,591$, $p < 0,01$, соответственно, на 1-е, 7-е и 21-е сутки), так и для TNF α (соответственно, $r = 0,767$, $p < 0,01$, $r = 0,697$, $p < 0,01$ и $r = 0,548$, $p < 0,01$). В общей группе пациентов с острым ИИ для TNF α связи были достоверными также во все сроки исследования (соответственно, $r = 0,445$, $p < 0,01$, $r = 0,474$, $p < 0,01$ и $r = 0,497$, $p < 0,01$), а для sTNF-R1 на 7-е и 21-е сутки (соответственно, $r = 0,527$, $p < 0,01$ и $r = 0,512$, $p < 0,01$). Для концентрации TNF α также достоверной была корреляционная связь в подгруппе неблагоприятного исхода на 21-е сутки ($r = 0,550$, $p < 0,01$).

Достоверные корреляционные связи были выявлены между концентрацией ИЛ-6 на 1-е сутки и величиной соотношения концентраций TNF α к sTNF-R1 во все сроки исследования: в общей выборке на 1-е ($r = 0,232$, $p < 0,01$), в подгруппе благоприятного исхода на 7-е и 21-е (соответственно, $r = -0,437$, $p < 0,01$ и $r = 0,597$, $p < 0,01$).

Таблица 6.12 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентрации ИЛ-6 и показателей регулирующей апоптоз системы TNF α у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сутки исследования

Показатель	сутки	ИЛ-6 (пг/мл)		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
sTNF-R1 (пг/мл)	1	0,157	0,061	-0,049
	7	0,527**	0,034	0,128
	21	0,512**	-0,12	0,035
TNF α (пг/мл)	1	0,445**	0,095	0,037
	7	0,474**	0,155	0,092
	21	0,497**	-0,041	-0,06
TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	1	0,232**	0,117	0,19
	7	-0,174	0,164	-0,069
	21	0,067	0,171	-0,042

В целом, результаты статистического анализа фактических данных дают основание заключить, что в остром периоде ИИ эффекторы апоптозиндуцирующих систем Fas и TNF α демонстрируют неидентичные закономерности зависимостей от эффекторов стресс-реализующих систем: система Fas более значимо связана с концентрацией эффекторов стресс-реализующих систем в периферической крови, чем система TNF α .

6.5 Корреляции показателей выраженности состояний стресса, тревоги, депрессии и клинического течения острого периода ишемического инсульта с показателями системного воспалительного ответа и регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α в периферической крови

По результатам корреляционного анализа между показателями концентрации эффекторов апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α в периферической крови и уровня депрессии, тревоги по шкале для их экспресс-оценки HADS, а также психоэмоционального стресса по опроснику Reeder были выявлены представленные ниже связи.

Концентрация sFas в периферической крови пациентов с острым ИИ, полученная на 7-е сутки исследования, коррелировала с количеством баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS на том же сроке в общей группе пациентов с острым ИИ и в подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = 0,414$, $p < 0,01$ и $r = 0,397$, $p < 0,05$), а также в исходе острого периода ИИ ($r = 0,368$, $p < 0,01$, $r = 0,464$, $p < 0,01$ и $r = 0,496$, $p < 0,05$, соответственно, в общей группе, в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода), а также с уровнем тревоги на 7-е сутки в общей группе ($r = 0,272$, $p < 0,01$) и на 21-е в общей группе и подгруппе неблагоприятного исхода ($r = 0,297$, $p < 0,05$ и $r = 0,460$, $p < 0,05$).

Концентрация sFasL, на 1-е сутки исследования была достоверно связана в общей группе с выраженностью депрессии на 7-е ($r = 0,352$, $p < 0,01$) и 21-е ($r = 0,307$, $p < 0,05$), тревоги на 21-е ($r = 0,304$, $p < 0,05$), психоэмоционального стресса на 7-е ($r = -0,290$, $p < 0,01$). Концентрация sFasL на 7-е сутки коррелировала с уровнем депрессии (соответственно, для общей выборки и подгруппы благоприятного исхода, $r = 0,575$, $p < 0,01$ и $r = 0,362$, $p < 0,05$), в общей выборке - тревоги ($r = 0,363$, $p < 0,01$) и психоэмоционального стресса ($r = -0,414$, $p < 0,01$) на том же сроке и с уровнем депрессии (соответственно, для общей выборки пациентов с острым ИИ, подгрупп благоприятного и неблагоприятного исхода, $r = 0,626$, $p < 0,01$, $r = 0,419$, $p < 0,05$ и $r = 0,401$, $p < 0,05$), тревоги ($r = 0,533$, $p < 0,01$ в общей выборке) на 21-е сутки исследования. Концентрация sFasL в периферической крови, полученная в исходе острого периода ИИ была ассоциирована в общей выборке с уровнем депрессии на 7-е ($r = 0,340$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,410$, $p < 0,01$), тревоги на 21-е ($r = 0,287$, $p < 0,05$).

Соотношение концентраций sFasL и sFas на 1-е сутки достоверно коррелировало в общей выборке и в подгруппе неблагоприятного исхода с уровнем депрессии (соответственно, $r = 0,627$, $p < 0,01$ и $r = 0,359$, $p < 0,05$) и тревоги ($r = 0,433$, $p < 0,01$ и $r = 0,374$, $p < 0,05$), а также в общей выборке с уровнем психоэмоционального стресса ($r = -0,506$, $p < 0,01$) на 7-е сутки

исследования; с уровнем депрессии на 21-е сутки в общей выборке и в подгруппе неблагоприятного исхода ($r = 0,672$, $p < 0,01$ и $r = 0,476$, $p < 0,05$) и тревоги в общей группе ($r = 0,639$, $p < 0,01$) (Таблица 6.13). Соотношение концентраций sFasL и sFas на 7-е сутки было ассоциировано в общей группе с уровнем депрессии ($r = 0,541$, $p < 0,01$), в общей группе и в подгруппе неблагоприятного исхода с уровнем тревоги ($r = 0,342$, $p < 0,01$ и $r = 0,445$, $p < 0,01$), а в общей выборке и в подгруппе благоприятного исхода с уровнем психоэмоционального стресса (соответственно, $r = -0,531$, $p < 0,01$ и $r = -0,345$, $p < 0,05$) на том же сроке, а также в общей выборке с уровнем депрессии ($r = 0,607$, $p < 0,01$) и тревоги ($r = 0,570$, $p < 0,01$) в исходе острого периода. Соотношение концентраций sFasL и sFas на 21-е сутки имело достоверные корреляционные связи лишь в общей выборке с уровнем депрессии ($r = 0,465$, $p < 0,01$ и $r = 0,571$, $p < 0,01$, соответственно, на 7 и 21-е сутки), ($r = 0,342$, $p < 0,01$ и $r = 0,445$, $p < 0,01$), психоэмоционального стресса на 7-е ($r = -0,418$, $p < 0,01$), тревоги на 21-е ($r = 0,461$, $p < 0,01$). Показатель sFasL-эффективности на 1-е сутки острого ИИ имел достоверные корреляционные связи с уровнем депрессии в подгруппе благоприятного исхода ($r = -0,427$, $p < 0,01$) и в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода с уровнем психоэмоционального стресса (соответственно, $r = -0,304$, $p < 0,01$ и $r = -0,464$, $p < 0,01$) на 7-е сутки исследования, в подгруппе благоприятного исхода на 21-е ($r = 0,350$, $p < 0,05$). sFasL-эффективность на 7-е сутки коррелировала с уровнем депрессии в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода на 7-е (соответственно, $r = 0,330$, $p < 0,01$ и $r = -0,442$, $p < 0,01$) и 21-е сутки ($r = 0,446$, $p < 0,01$ и $r = -0,440$, $p < 0,01$); с уровнем тревоги в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода на 7-е (соответственно, $r = 0,204$, $p < 0,05$ и $r = -0,442$, $p < 0,01$) и в общей выборке пациентов на 21-е ($r = 0,379$, $p < 0,01$); с уровнем психоэмоционального стресса на 7-е сутки в общей группе, подгруппах благоприятного и неблагоприятного исхода ($r = -0,492$, $p < 0,01$, $r = -0,450$, $p < 0,01$ и $r = -0,380$, $p < 0,05$), на 21-е лишь в подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,359$, $p < 0,05$). sFasL-эффективности на 21-е сутки была

ассоциирована в общей выборке и подгруппе неблагоприятного исхода с уровнем психоэмоционального стресса на 7-е ($r = 0,272$, $p < 0,05$ и $r = 0,503$, $p < 0,05$), в общей выборке с уровнем тревоги на 21-е ($r = -0,255$, $p < 0,05$).

Таблица 6.13 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) соотношения концентраций sFasL и sFas и показателей психоэмоционального состояния у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сроки исследования

Показатель	сутки	HADS Д (баллы)		HADS Т (баллы)	
		1 сутки	7 сутки	1 сутки	7 сутки
sFas (пг/мл)	1	0,019	-0,082	-0,102	-0,099
	7	0,414**	0,368**	0,272**	0,297*
	21	0,145	0,118	0,179	0,044
sFasL (пг/мл)	1	0,352**	0,307*	0,159	0,304*
	7	0,575**	0,626**	0,363**	0,533**
	21	0,340**	0,410**	0,222	0,287*
sFasL/sFas (д. ед.)	1	0,627**	0,672**	0,433**	0,639**
	7	0,541**	0,607**	0,342**	0,570**
	21	0,465**	0,571**	0,239	0,461**
CD3CD95+ лимфоциты ($10^9/л$)	1	0,444**	0,242	0,375**	0,216
	7	-0,09	-0,154	-0,037	-0,082
	21	0,436**	0,593**	0,224	0,563**
sFasL- эффективность ($л/10^9$)	1	0,05	0,223	-0,027	0,212
	7	0,330**	0,446**	0,204*	0,379**
	21	-0,115	-0,237	-0,001	-0,255*

Достоверные связи значения абсолютного числа CD3CD95-позитивных лимфоцитов в единице объема периферической крови на 1-е сутки выявлены в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода с уровнем депрессии (соответственно, $r = 0,444$, $p < 0,01$ и $r = 0,573$, $p < 0,01$), тревоги ($r = 0,375$, $p < 0,01$ и $r = 0,466$, $p < 0,01$) и психоэмоционального стресса ($r = 0,403$, $p < 0,05$ только для подгруппы благоприятного исхода) на 7-е сутки наблюдения; для 21-х суток в подгруппе благоприятного исхода - с уровнем депрессии и психоэмоционального стресса ($r = 0,410$, $p < 0,05$ и $r = -0,497$, $p < 0,01$), в общей выборке - только с уровнем психоэмоционального стресса ($r = -0,293$, $p < 0,05$). Абсолютное число CD3CD95-позитивных лимфоцитов на 7-е сутки

коррелировало в подгруппе благоприятного исхода с уровнем депрессии и тревоги на том же сроке исследования (соответственно, $r = 0,427$, $p < 0,01$ и $r = 0,521$, $p < 0,01$) и на 21-е сутки ($r = 0,428$, $p < 0,01$ и $r = 0,345$, $p < 0,05$), а также с уровнем психоэмоционального стресса в общей выборке и подгруппе неблагоприятного исхода на 7-е ($r = 0,311$, $p < 0,01$ и $r = 0,348$, $p < 0,05$), в подгруппе благоприятного исхода на 21-е ($r = -0,371$, $p < 0,05$). Абсолютное число CD3CD95-позитивных лимфоцитов на 21-е сутки в общей выборке было связано с уровнем депрессии (соответственно на 7-е и 21-е сутки, $r = 0,436$, $p < 0,01$ и $r = 0,593$, $p < 0,01$), тревоги ($r = 0,563$, $p < 0,01$) на 21-е, стресса на 7-е (соответственно в общей выборке и подгруппе неблагоприятного исхода, $r = -0,493$, $p < 0,01$ и $r = -0,455$, $p < 0,05$) (Таблица 6.13).

Таким образом, между показателями концентрации эффекторов регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы Fas в периферической крови и показателями уровня депрессии, тревоги по шкале HADS (концентрации sFasL, sFas и их соотношение) и психоэмоционального стресса (показатель sFasL-эффективности) выявлены достоверные прямые корреляционные связи.

Концентрация sTNF-R1 в периферической крови пациентов с острым ИИ на 1-е сутки исследования достоверно коррелировала с уровнем депрессии (соответственно, в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода, $r = 0,319$, $p < 0,01$ и $r = 0,742$, $p < 0,01$), тревоги (в общей выборке, подгруппе благоприятного и неблагоприятного исхода: $r = 0,384$, $p < 0,01$, $r = 0,642$, $p < 0,01$ и $r = 0,333$, $p < 0,05$), психоэмоционального стресса (в подгруппе благоприятного исхода $r = 0,380$, $p < 0,05$) на 7-е сутки, а также уровнем депрессии ($r = 0,355$, $p < 0,05$) и стресса ($r = -0,265$, $p < 0,05$ в общей выборке, $r = -0,471$, $p < 0,01$ в подгруппе благоприятного) на 21-е. Концентрация sTNF-R1 на 7-е сутки была ассоциирована с уровнем депрессии ($r = 0,683$, $p < 0,01$) и тревоги ($r = 0,565$, $p < 0,01$) на том же сроке исследования в подгруппе благоприятного исхода. Концентрация sTNF-R1 в исходе острого периода ИИ коррелировала с уровнем депрессии ($r = 0,424$, $p < 0,01$ в общей группе, $r =$

0,464, $p < 0,01$ в подгруппе благоприятного исхода) и тревоги ($r = 0,345$, $p < 0,01$ в общей выборке) на 7-е сутки наблюдения.

Концентрация TNF α в периферической крови пациентов с ИИ на 1-е сутки исследования достоверно коррелировала с уровнем депрессии (в общей выборке, подгруппе благоприятного и неблагоприятного исхода: $r = 0,622$, $p < 0,01$, $r = 0,732$, $p < 0,01$ и $r = 0,521$, $p < 0,01$), тревоги (соответственно, $r = 0,580$, $p < 0,01$, $r = 0,609$, $p < 0,01$ и $r = 0,446$, $p < 0,01$) и психоэмоционального стресса ($r = 0,354$, $p < 0,05$ в подгруппе благоприятного исхода) на 7-е сутки и с теми же показателями, полученными на 21-е сутки: с уровнем депрессии (в общей выборке, подгруппе благоприятного исхода: $r = 0,495$, $p < 0,01$, $r = 0,502$, $p < 0,01$), тревоги ($r = 0,483$, $p < 0,01$, $r = 0,344$, $p < 0,05$ и $r = 0,461$, $p < 0,05$) и психоэмоционального стресса ($r = -0,550$, $p < 0,01$ и $r = 0,445$, $p < 0,05$ в подгруппах благоприятного и неблагоприятного исходов). Концентрация TNF α , полученная на 7-е сутки исследования была связана с полученными на том же сроке показателями уровня депрессии в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода ($r = 0,221$, $p < 0,05$ и $r = 0,542$, $p < 0,01$), тревоги в подгруппе неблагоприятного исхода ($r = -0,349$, $p < 0,05$), психоэмоционального стресса в подгруппе благоприятного исхода на 7-е и 21-е сутки ($r = 0,420$, $p < 0,05$ и $r = -0,438$, $p < 0,01$). Концентрация TNF α на 21-е сутки коррелировала только с уровнем депрессии в подгруппе благоприятного исхода на 7-е сутки ($r = 0,336$, $p < 0,05$).

Значение соотношения концентраций TNF α к sTNF-R1 в периферической крови пациентов с ИИ на 1-е сутки было достоверно связано с уровнем депрессии ($r = 0,356$, $p < 0,01$), тревоги ($r = 0,200$, $p < 0,05$) и психоэмоционального стресса ($r = -0,260$, $p < 0,01$) в общей выборке пациентов с острым ИИ на 7-е сутки; с уровнем депрессии в общей выборке, подгруппе благоприятного исхода (соответственно, $r = 0,484$, $p < 0,01$, $r = 0,367$, $p < 0,05$) и тревоги в общей выборке ($r = 0,465$, $p < 0,01$) на 21-е. Соотношение концентраций TNF α к sTNF-R1, полученное на 7-е сутки, коррелировало с уровнем депрессии в подгруппе благоприятного исхода на 7-е сутки ($r = -$

0,444, $p < 0,01$) и в общей выборке на 21-е ($r = -0,427$, $p < 0,01$), с уровнем тревоги в подгруппе благоприятного исхода на 7-е сутки ($r = -0,458$, $p < 0,01$) и в общей выборке на 21-е ($r = 0,276$, $p < 0,05$). Полученное в исходе острого периода ИИ соотношение концентраций TNF α к sTNF-R1 коррелировало с уровнем депрессии в общей выборке на 7-е сутки ($r = -0,300$, $p < 0,05$) и на 21-е ($r = -0,427$, $p < 0,01$), с уровнем психоэмоционального стресса в общей выборке и подгруппе благоприятного исхода на 7-е сутки (соответственно, $r = 0,533$, $p < 0,01$, $r = 0,468$, $p < 0,01$) и в общей выборке с уровнем тревоги на 21-е ($r = -0,461$, $p < 0,01$) (Таблица 6.14).

Таблица 6.14 Коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 и показателей психоэмоционального состояния у пациентов в остром периоде ИИ на указанные в таблице сроки исследования

Показатель	сутки	HADS Д (баллы)		HADS Т (баллы)	
		1 сутки	7 суток	1 сутки	7 суток
sTNF-R1 (пг/мл)	1	0,319**	0,222	0,384**	0,231
	7	0,162	0,068	0,134	0,028
	21	0,424**	0,162	0,345**	0,199
TNF α (пг/мл)	1	0,622**	0,495**	0,580**	0,483**
	7	0,221*	0,163	0,057	0,062
	21	0,162	-0,139	0,115	-0,139
TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	1	0,356**	0,484**	0,200*	0,465**
	7	0,119	0,338**	-0,061	0,276*
	21	-0,300*	-0,427**	-0,244	-0,461**

Таким образом, для концентраций TNF α и sTNF-R1 в периферической крови пациентов с ИИ картина распределения корреляционных связей в целом сходна с таковой для показателей системы Fas: их содержание в крови пропорционально выраженности тревоги и депрессии, однако коэффициенты корреляции системы TNF α имеют более низкие значения. Для соотношения концентраций TNF α к sTNF-R1 характерна картина корреляционных связей показателя sFasL-эффективности с выраженностью психоэмоционального стресса.

В целом, результаты статистического анализа фактических данных дают основание заключить, что в остром периоде ИИ эффекторы регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α демонстрируют неидентичные закономерности корреляционных связей с выраженностью тревоги и депрессии. С уровнем психоэмоционального стресса коррелируют показатели sFasL-эффективности и соотношения концентраций TNF α к sTNF-R1.

Описанные выше связи между концентрациями нейрогуморальных эффекторов стресс-реализующих систем и клиническими проявлениями их активации, а также отдельными патофизиологическими и клиническими характеристиками течения острого периода ИИ демонстрируют необходимость учета закономерностей ответа организма на стрессовое воздействие во врачебной практике при работе с пациентами в остром периоде ИИ, при построении патофизиологических моделей, а также разработки новых патофизиологически обоснованных алгоритмов их лечения и реабилитации [97, 101, 102, 105].

Глава 7 Закономерности апоптоза нейронов в головном мозге при ишемическом инсульте. Патоморфологические данные.

7.1 Закономерности морфологических изменений в коре головного мозга после ишемического инсульта

Для выявления закономерностей апоптоза нейронов коры головного мозга при ишемическом инсульте проводили комплексное исследование состояния ее структуры в рамках патоморфологического исследования. При визуальной оценке окрашенных по методике Ниссля и гематоксилином-эозином гистологических срезов пространственная организация коры головного мозга была не одинаковой в выбранных для исследования зонах и в группе контроля.

Так в зоне 1, непосредственно прилежащей к ишемическому очагу, и в зоне 2, находящейся на расстоянии 5-7 см от первой («зона пенумбры») цитоархитектоника была значительно изменена: отмечалась утрата дифференцированных слоев коры головного мозга. В зоне 3 и в контрольной группе кора головного мозга имела характерную организацию в виде слоев, параллельных поверхности мозга - были различимы молекулярный (плексиформный), наружный зернистый, внешний пирамидный, внутренний зернистый, внутренний пирамидный (ганглионарный), слой полиморфных клеток. В наружном зернистом слое различимы были малые и средние пирамидные нейроны, в слое крупных пирамид наблюдались пирамидные нейроны большей величины, в ганглионарном слое - крупные пирамидные нейроны.

При этом как в ипсилатеральном (зоны 1 и 2), так и контралатеральном (зона 3) очагу полушариях обращало на себя внимание диффузное «запустение» участков коры мозга. Выраженность указанных изменений в ипсилатеральном полушарии была большей и наиболее выраженной в зоне 1.

Во всех зонах исследования с использованием иммуногистохимической реакции для выявления NSE, методик окрашивания гематоксилином-эозином, по Ниссля и световой микроскопии были выявлены

морфологически измененные нейроны. Наиболее часто они имели признаки гомогенизации и инкрустации цитоплазмы, деформации и сморщивания ядер, кариоцитоллиз с образованием клеток-теней, хроматолиз, перемещение ядра на периферию клетки и его набухание, смещение ядрышка к периферии ядра (Рисунок 7.1, Рисунок 7.2, Рисунок 7.3).

Во всех зонах отмечался перицеллюлярный отек разной степени выраженности. Максимальные изменения были характерны для 1-й зоны, где все нейроны подверглись повреждению. В 3-й зоне встречались лишь отдельные участки нервной ткани, где наблюдались вышеописанные изменения.

При анализе изображений, полученных со срезов, на которых проводили иммуногистохимическую реакцию для выявления нейронспецифической енолазы (NSE), при визуальной оценке было отмечено, что в отдельных нейронах 2-й и 3-й зон она была выражена сильнее (Рисунок 7.4). Возможности применяемого метода не предполагают количественного определения фермента, однако значительный градиент интенсивности иммуногистохимической реакции все же дает возможность сделать заключение о более интенсивной экспрессии NSE в отдельных нервных клетках. Возможно, что выявленная высокая функциональная активность свидетельствует о реализации компенсаторно-приспособительных реакций как вблизи, так и на отдалении от зоны ишемического повреждения.

В результате проведения иммуногистохимической реакции для выявления глиофибрилярного кислого белка (GFAP) и ее оценки при помощи световой микроскопии были выявлены следующие закономерности. В 1-й зоне наблюдали деформацию, гипертрофию, интра- и перицеллюлярный отек, а также набухание астроцитов. В этой зоне наблюдалось увеличение их количества, наиболее выраженное периваскулярно. В зонах деструкции мозговой ткани погибшие астроциты были представлены GFAP-позитивными зернистыми массами. Во 2-й зоне

также наблюдались незначительные явления интра- и перицеллюлярного отека астроглиальных клеток (Рисунок 7.5).

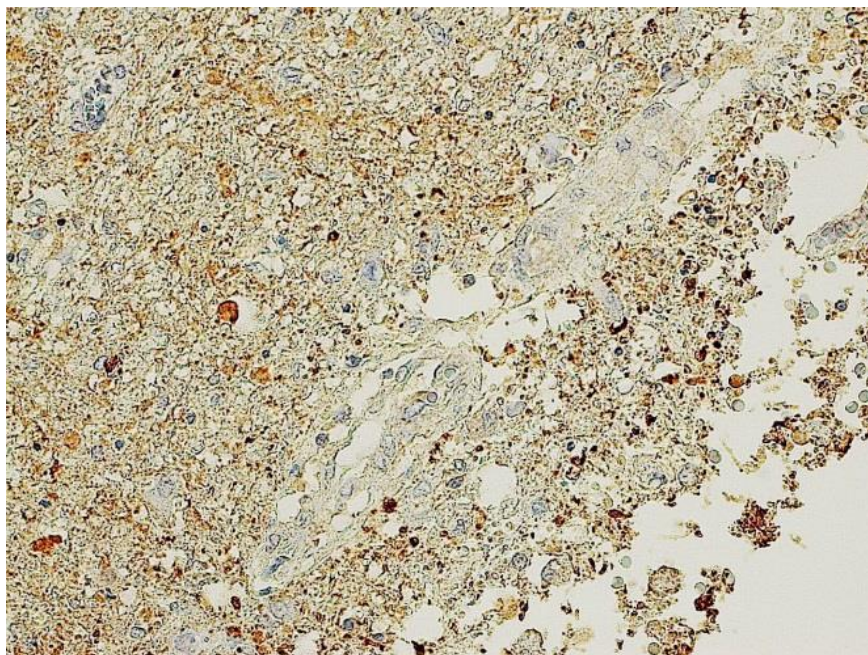


Рисунок 7.1 «Некротическое ядро» очаг ишемического повреждения в коре головного мозга у пациента с ИИ (ИГХ реакция NSE, увеличение X200)

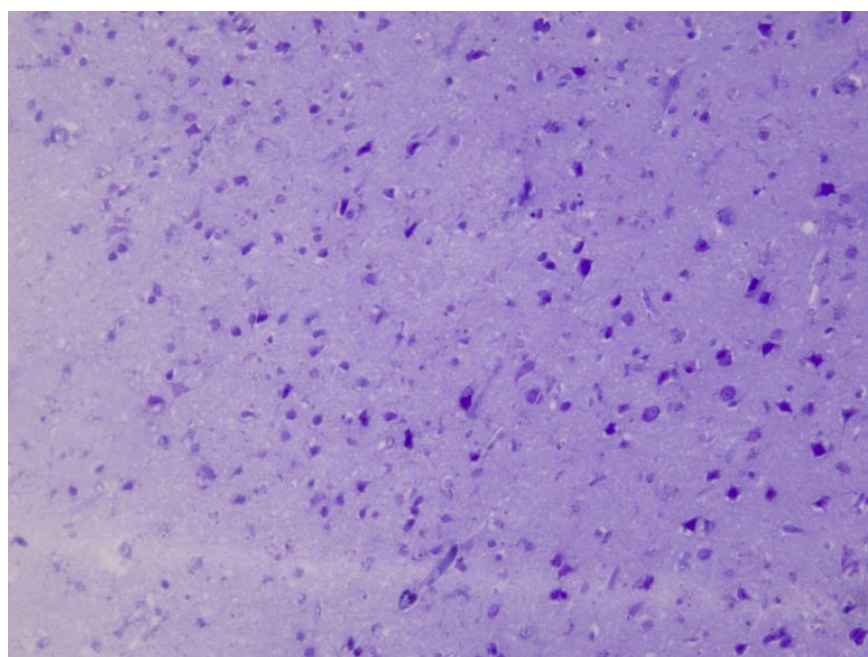


Рисунок 7.2 Утрата дифференцированности слоев и уменьшение плотности расположения клеток в зоне исследования 2 («зона пенумбры») в коре головного мозга у пациента после ИИ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение X200)

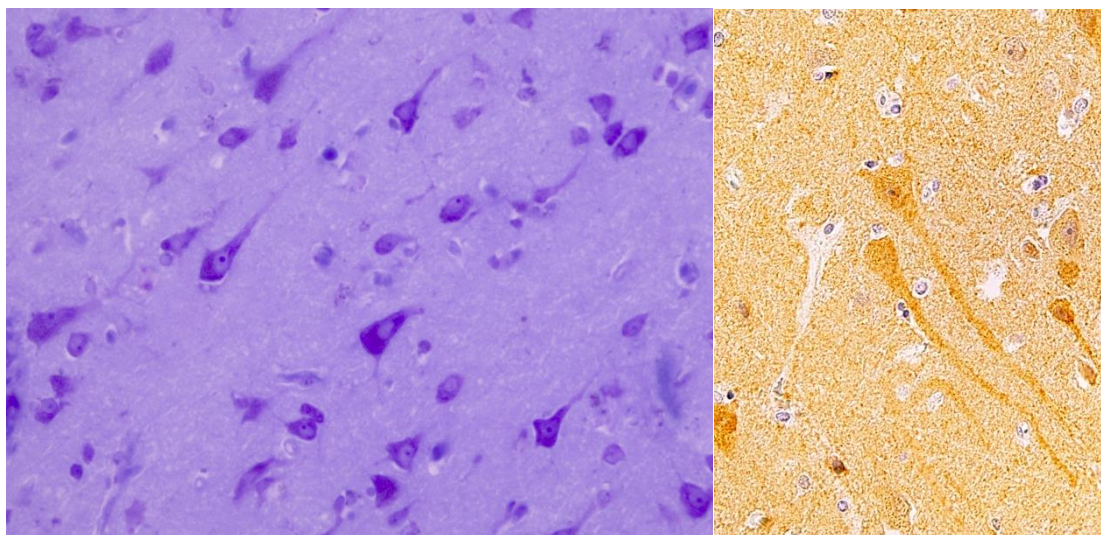


Рисунок 7.3 Морфологически измененные нейроны и саттелитоз в зоне исследования 2 («зона пенумбры») в коре головного мозга у пациента после ИИ (окраска гематоксилином и эозином (слева), ИГХ реакция NSE (справа), увеличение X400)

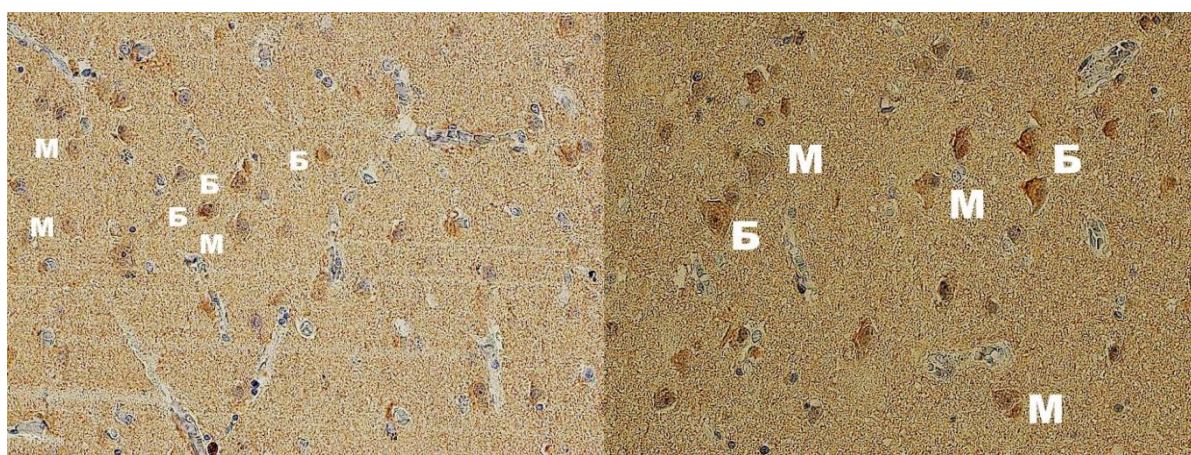


Рисунок 7.4 Разная интенсивность ИГХ реакции NSE нейронов в зоне 2 (слева) и в зоне 3 (справа) (М - менее интенсивная, Б – более интенсивная) (ИГХ реакция NSE, увеличение X400)

В зонах 3 и 4 при визуальной оценке значимой деформации астроцитов не наблюдалось.

В очаге некроза и прилежащей к нему 1-й зоне наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация, интенсивность которой снижалась при удалении от некротического очага.

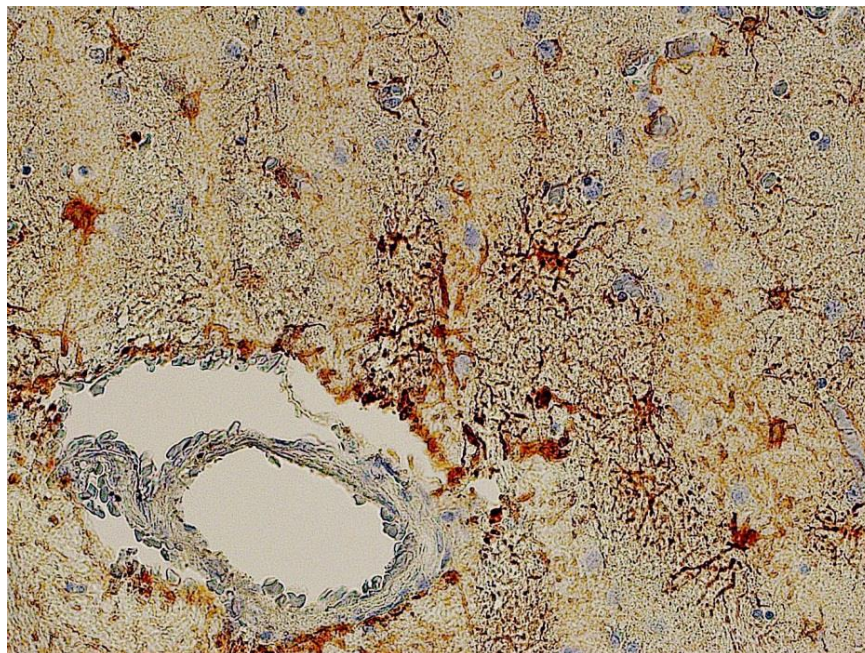


Рисунок 7.5 Периваскулярно расположенные астроциты в зоне исследования 2 в коре головного мозга у пациента после ИИ (ИГХ реакция GFAP, x400)

Во всех изученных образцах ткани головного мозга были выявлены изменения сосудистой стенки артерий, характерные для артериальной гипертензии и атеросклероза. При наличии артериальной гипертензии наблюдали явления миоэластофиброза, склероза, гиалиноза, нарушения структурной целостности внутренней эластической мембраны, признаки атрофии гладкомышечных клеток, что сопровождалось деформацией и уменьшением просвета артерий. При преобладании в клинической картине симптомов атеросклероза выявляли фиброз, наличие фиброзных бляшек, гиалиноз, истончение мышечной оболочки артерий, липоидоз.

Во всех зонах исследования были выявлены изменения регионарного кровотока: венозная гиперемия, стаз, агрегация эритроцитов, периваскулярный отек, набухание эндотелиоцитов.

Таким образом, при оценке морфологической картины коры головного мозга на различном удалении от очага ИИ можно сделать следующие заключения. Развитие ИИ сопровождается значительными изменениями цитоархитектоники коры головного мозга. В 1-й и 2-й зонах происходит

утрата дифференцированных слоев коры головного мозга, во всех исследуемых зонах обнаруживали очаги разреженного расположения нервных клеток.

После ИИ изменения морфологической структуры нейронов и глиальных элементов имеют место во всех исследованных зонах. Чем более удалена зона от очага ишемии, тем менее выражены изменения.

Количественные показатели морфологических закономерностей изменений в коре головного мозга после ИИ были получены при помощи морфометрического исследования, которое включало определение общей численной плотности (абсолютное число изучаемых элементов на единицу площади среза) на 1 мкм^2 , а также расчет доли/процентного содержания изучаемых элементов относительно всех остальных. Также рассчитывали астронейрональный индекс путем соотнесения общей численной плотности астроцитов (в пересчете на 1 мм^2 поля зрения), верифицированных при помощи иммуногистохимической реакции для выявления GFAP, и общей численной плотности нейронов (в пересчете на 1 мм^2 поля зрения), верифицированных при помощи иммуногистохимической реакции для выявления NSE (Таблица 7.1).

Таблица 7.1 Количественные показатели морфологических закономерностей изменений в коре головного мозга после ИИ

Показатель	Контроль	Зона		
		1	2	3
ОЧП нейронов (ед./мм²)	1489 (1436,8;1567,4)	418 (339,6;496,3)**	835,9 (783,7;940,4)**##	1097,2 (1018,8;1201,7)**##
ОЧП поврежденных нейронов (ед./мм²)	182,9 (130,6;235,1)	391,8 (313,5;470,2)**	627 (548,6;705,3)**##	156,7 (104,5;209)**##
Доля поврежденных нейронов (%)	12,1 (8,3;15,4)	90 (83,3;94,7)**	74,2 (69;78,1)**##	13,9 (9,8;18,6)**##
ОЧП клеточных элементов (ед./мм²)	2298,9 (2089,9;2534)	1462,9 (1175,5;1724,1)**	1306,2 (1149,4;1462,9)**##	1724,1 (1593,5;1880,9)**##
Нейронастроглиальный индекс (д.ед.)	0,277 (0,224;0,31)	0,35 (0,222;0,5)**	0,296 (0,25;0,351)**##	0,34 (0,297;0,372)**##

Общая численная плотность нейронов (NSE-позитивных клеток) в образцах коры головного мозга группы контроля (1489 (1436,8;1567,4)

единиц на 1 мкм² (ед./ мкм²)) достоверно отличалась от таковой во всех исследованных зонах пациентов, умерших после развития ИИ (Рисунок 7.6А).

В 1-й зоне общая численная плотность нейронов составила 418 (339,6;496,3) ед./ мкм², во 2-ой зоне - 835,9 (783,7;940,4) ед./ мкм², в 3-ей зоне - 1097,2 (1018,8;1201,7) ед./ мкм² ($p < 0,01$ для всех приведенных выше показателей). При этом прослеживалась достоверная динамика увеличения общей численной плотности нейронов при удалении от очага некротически измененной ткани ($p < 0,01$) (Рисунок 7.6Б).

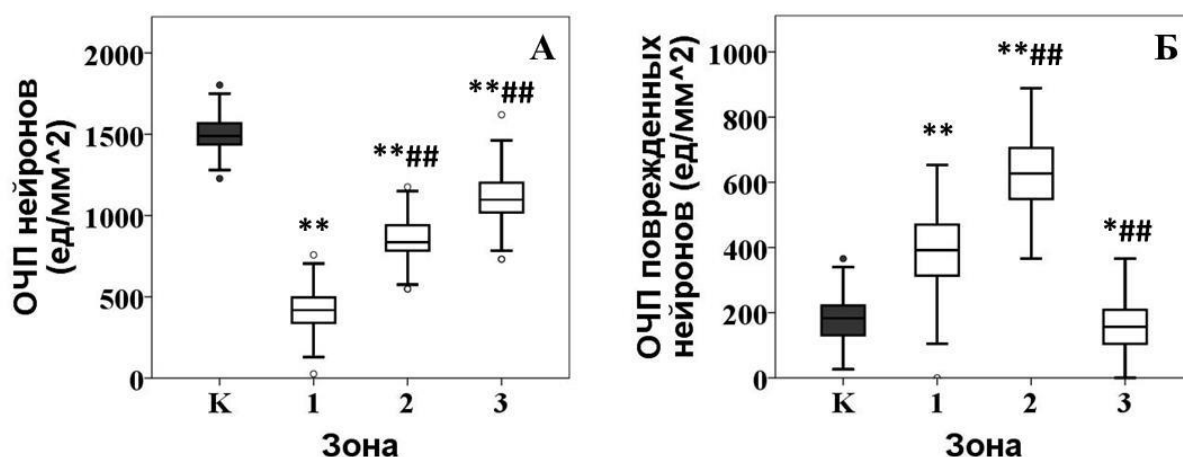


Рисунок 7.6 Общая численная плотность нейронов (слева) и общая численная плотность поврежденных нейронов (справа) в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К) (ед./мм²), * - р-уровень отличия данных от контроля (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$), # - р-уровень отличия данных от данных от следующей зоны (# $p < 0,05$, ## $p < 0,01$)

Наибольшее процентное содержание поврежденных нейронов отмечалось в 1-й зоне (92,9 (88,9;95,5)%), далее оно уменьшалось по мере удаления от очага и во 2-й зоне составило 75 (71,4;78,6)%, а в 3-й - 15 (10,3;19,5)%. В контрольных образцах оно было наименьшим (10,3 (6,7;13,5)%) ($p < 0,01$ для всех образцов ткани после ИИ) (Рисунок 7.7)

Общая численная плотность поврежденных нейронов была наибольшей в зоне 2 и достигала 627 (574,7;705,3) ед./ мкм², тогда как в зоне 1 лишь 391,8 (339,6;470,2) ед./ мкм². Это можно объяснить тем, что в 1-й зоне общее

количество нейронов на единицу площади было значительно снижено, поэтому, хотя поврежденные нейроны значимо преобладали в этой зоне, количественный показатель был достоверно меньшим ($p < 0,01$). В зоне 3 и в контрольных образцах также наблюдались значимые ($p < 0,05$) отличия по данным показателям (156,7 (104,5;209) ед./ мкм² и 13,9 (9,8;18,6)% соответственно для общей численной плотности и для доли поврежденных нейронов).

Общая численная плотность клеточных элементов на единицу площади была наибольшей в 1 зоне и составляла 1462,9 (1175,5;1724,1) ед./ мкм². Это происходило за счет лейкоцитарной инфильтрации. В других зонах лейкоцитарной инфильтрации не наблюдалось, там показатели были равны 1306,2 (1149,4;1462,9) и 1724,1 (1593,5;1880,9) ед./ мкм² соответственно для 2 и 3 зоны, что достоверно отличалось ($p < 0,01$) от группы контроля (2298,9 (2089,9;2534) ед./ мкм²) (Рисунок 7.8).

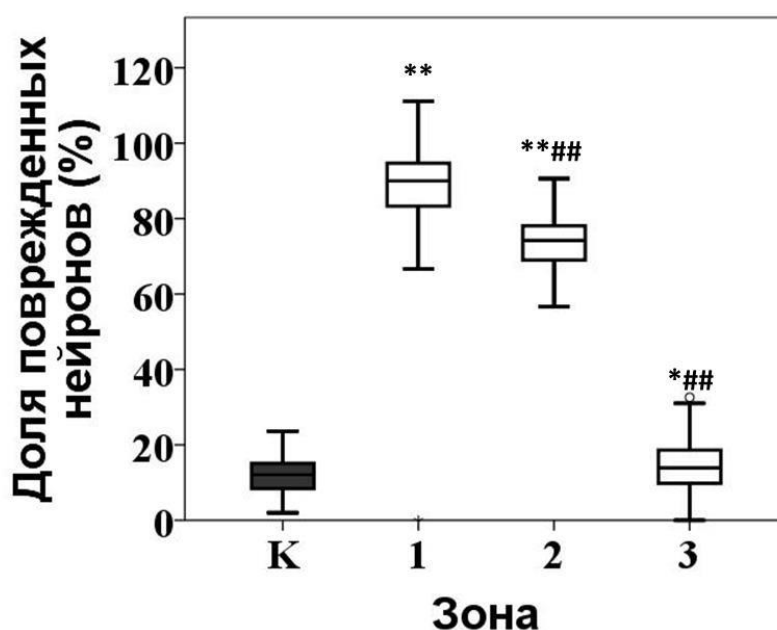


Рисунок 7.7 Доля поврежденных нейронов в коре головного мозга пациентов после ИИ и в группе контроля (К) (%), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

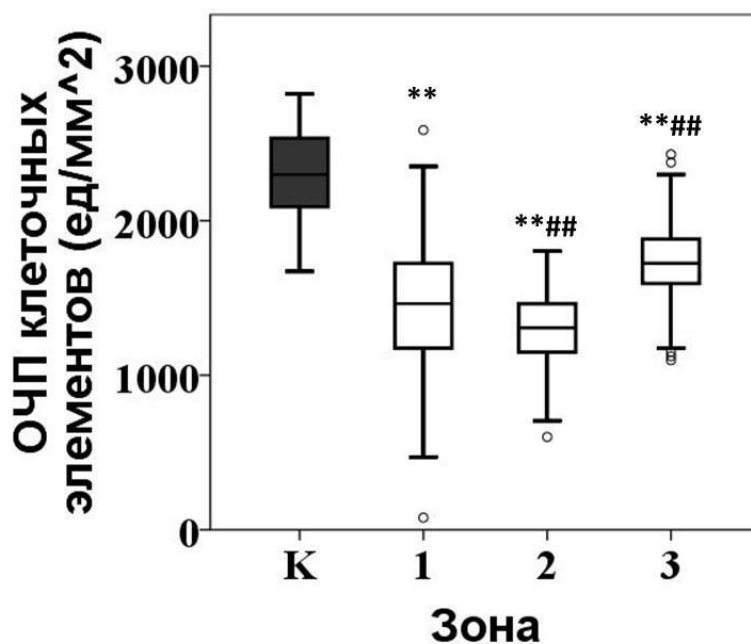


Рисунок 7.8 Общая численная плотность клеточных элементов в коре головного мозга пациентов после ИИ и в группе контроля (К) (ед./мм²), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

Астро-нейрональный индекс имел наименьшие значения ($p < 0,01$) в контрольных образцах, где составил 0,277 (0,224;0,31) д.ед., в зоне 1 - 0,35 (0,222;0,5), в зоне 2 - 0,296 (0,25;0,351), в зоне 3 - 0,34 (0,297;0,372) д.ед.

Для выявления корреляционных связей клинических и лабораторных показателей при поступлении пациента с ИИ в стационар с изменениями морфологических характеристик коры головного мозга после их смерти выполняли корреляционный анализ. Было выявлено, что ни общая численная площадь нейронов, ни общая численная плотность поврежденных нейронов на единицу площади ни в одной из исследуемых зон коры головного мозга не коррелировали с тяжестью неврологического дефицита (в баллах по шкале NIHSS) в 1-е сутки исследования.

В 1-й зоне выявлена достоверная отрицательная корреляционная связь между тяжестью неврологического дефицита и общей численной плотностью клеточных элементов ($r = -0,196$, $p < 0,01$) (Таблица 7.2). Величина последней зависела от выраженности лейкоцитарной инфильтрации. Из чего можно заключить, что в острейшем периоде ИИ локальный воспалительный процесс

имеет не только эффект повреждения ткани, но и задействован в ее восстановлении. При этом уровень системного воспалительного ответа на 1-е сутки после ИИ, оцениваемый по количеству лейкоцитов в периферической крови, был связан с уровнем неврологического дефицита на 1-е сутки после ИИ ($r = 0,365$, $p < 0,01$ для общей выборки) и оказывал влияние на исход его острого периода ($r = 0,512$, $p < 0,01$): вероятно, между системным и локальным воспалительным ответом нет прямой зависимости, она более сложная, нелинейная.

Таблица 7.2 Достоверные коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) выраженности неврологического дефицита, концентраций гормонов стресс-реализующей системы на 1-е сутки исследования и количественных показателей морфологических изменений в коре головного мозга у пациентов, умерших в остром периоде ИИ

Показатель		Зона	Коэффициент корреляции
морфологический	клинический		
ОЧП нейронов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	1	-0,156*
ОЧП нейронов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	2	-0,174*
ОЧП нейронов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	3	-0,149*
ОЧП поврежденных нейронов (ед./мм ²)	Адреналин (пг/мл)	1	-0,144*
ОЧП поврежденных нейронов (ед./мм ²)	Норадреналин (пг/мл)	3	-0,164*
ОЧП поврежденных нейронов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	2	-0,098
ОЧП поврежденных нейронов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	3	0,257**
ОЧП клеточных элементов (ед./мм ²)	NIHSS (баллы)	1	-0,196**
ОЧП клеточных элементов (ед./мм ²)	Кортизол (нмоль/л)	3	-0,146*
ОЧП клеточных элементов (ед./мм ²)	АКТГ (пг/мл)	1	0,282**
ОЧП клеточных элементов (ед./мм ²)	АКТГ (пг/мл)	2	0,164*
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	NIHSS (баллы)	1	-0,423**
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	NIHSS (баллы)	2	-0,276**
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	ИЛ-6 (пг/мл)	2	0,146*
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	Норадреналин (пг/мл)	1	-0,182*
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	Норадреналин (пг/мл)	2	-0,145*
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	Кортизол (нмоль/л)	1	0,254**
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	АКТГ (пг/мл)	1	0,632**
Нейроастроглиальный индекс (д.ед.)	АКТГ (пг/мл)	2	0,380**

Также выявлено, что с ростом балла по NIHSS сочетается достоверное уменьшение астронейронального индекса, т.е. уменьшается количество

астроцитов, приходящихся на 1 нейрон, в 1 ($r = -0,423$, $p < 0,01$) и 2 ($r = -0,276$, $p < 0,01$) зонах коры головного мозга. При удалении от очага ишемии эта зависимость уменьшалась и становилась недостоверной для образцов контрлатеральных полушарий. Видимо, сохранение и восполнение популяции астроглиоцитов в ипсилатеральном очагу полушария является возможной мишенью для терапевтического воздействия в острейшем периоде ИИ.

Концентрация кортизола в периферической крови пациентов с ИИ на 1-е сутки исследования была достоверно обратно связана с общей численной плотностью нейронов во всех исследованных зонах коры головного мозга ($r = -0,156$, $p < 0,05$, $r = -0,174$, $p < 0,05$ и $r = -0,149$, $p < 0,05$ соответственно для 1, 2 и 3-й зоны). При этом общая численная плотность поврежденных нейронов в зонах, прилежащих к очагу, от концентрации кортизола в периферической крови не зависела. Однако, в 3-ей зоне была выявлена достоверная связь этих показателей ($r = 0,257$, $p < 0,01$).

Содержание норадреналина в периферической крови пациентов на 1-е сутки исследования также достоверно коррелировало с общей численной плотностью поврежденных нейронов в 3-й зоне ($r = -0,164$, $p < 0,05$), адреналин - в 1-й зоне ($r = -0,144$, $p < 0,05$). Значимо, что для этих показателей наблюдалась обратная зависимость. Из чего можно сделать вывод, что активация симпато-адреналовой системы в острейшем периоде ИИ оказывает нейропротекторный эффект.

Концентрация кортизола в периферической крови также коррелировала с общей численной плотностью клеточных элементов в 3-ей зоне ($r = -0,146$, $p < 0,05$) и величиной астронейронального индекса в 1-й зоне ($r = 0,254$, $p < 0,01$). Концентрация АКТГ - с общей численной плотностью клеточных элементов в 1-й и 2-й зонах (соответственно $r = 0,282$, $p < 0,01$ и $r = 0,164$, $p < 0,05$). На величину астронейронального индекса во 2-й зоне прямое влияние оказывали концентрации в периферической крови ИЛ-6 ($r = 0,146$, $p < 0,05$), в 1-й и 2-й зонах - АКТГ (соответственно $r = 0,632$, $p < 0,01$ и $r = 0,380$,

$p < 0,01$). Обратная зависимость выявлена с концентрацией норадреналина ($r = -0,182$, $p < 0,05$ и $r = -0,145$, $p < 0,05$, соответственно для 1-й и 2-й зоны).

В 1-й зоне с повышением концентрации адреналина выявлено уменьшение общей численной плотности поврежденных нейронов ($r = -0,144$, $p < 0,05$).

В контрлатеральном ишемическом очагу полушарии (3-я зона) концентрации норадреналина ($r = -0,164$, $p < 0,05$) и кортизола ($r = 0,257$, $p < 0,01$) коррелировали с общей численной плотностью поврежденных нейронов. Отрицательный коэффициент корреляции концентрации норадреналина свидетельствует о том, что активация симпато-адреналовой системы в острейшем периоде ИИ может оказывать модулирующее нейропротекторное влияние. Активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси с увеличением концентрации кортизола, вероятно, отрицательно влияет на реализацию адаптивных процессов в контрлатеральном очагу ишемии полушарии, о чем свидетельствует увеличение количества поврежденных нейронов на единицу площади в 3-й зоне.

Учитывая, что концентрация кортизола прямо коррелирует с выраженностью неврологического дефицита на 1-е сутки исследования, можно сделать вывод, что на течение ИИ оказывают влияние не только процессы, происходящие в очаге ишемии, но и в контрлатеральном полушарии. Они также зависимы от особенностей закономерностей регуляции стресс-реализующих механизмов.

Таким образом, при количественной оценке морфологической картины коры головного мозга локализованной на различном удалении от очага ИИ можно сделать следующие заключения: для острейшего периода ИИ характерно: увеличение общей численной плотности нейронов; уменьшение доли поврежденных нейронов при удалении от ишемического очага; изменение количественных соотношений нейронов и астроцитов в виде

увеличения астронейроглиального индекса по сравнению с контрольной группой во всех исследованных зонах [91, 110].

7.2 Распространенность и локализация апоптоза нейронов в коре головного мозга после ишемического инсульта

О реализации механизмов апоптоза в нейронах на гистологических срезах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ, и в группе контроля судили по наличию в них белков p53, каспаза 8, каспаза 3. Их выявляли при помощи иммуногистохимического исследования. В дублирующих срезах выполняли иммуногистохимическую реакцию для определения NSE (Таблица 7.3).

Таблица 7.3 Количественные показатели морфологических закономерностей распространенности и локализации апоптоза нейронов головного мозга после ИИ

Показатель	Контроль	Зона		
		1	2	3
Доля p53+ нейронов (%)	20,4 (14,8;25)	85 (80;90,9)**	33,3 (27,6;40,5)**##	26,1 (18,2;33,3)**##
Доля каспаза 3+ нейронов (%)	19,7 (13,4;26,3)	88,2 (81,3;94,1)**	50 (41,9;55,6)**##	39,3 (34;44,4)**##
Доля каспаза 8+ нейронов (%)	36,2 (28;42,2)	73,1 (66,7;78,6)**	70,4 (65,6;75,8)**##	48,5 (42,9;54,5)**##

В контрольных образцах доля p53 позитивных нейронов составила 20,4 (14,8;25)%. В образцах всех зон после церебральной ишемии были выявлены достоверные отличия от группы контроля ($p<0,01$). В первой зоне отмечалась максимальная представленность p53 позитивных нейронов, их доля составляла 85 (80;90,9)%, что было достоверно больше ($p<0,01$), чем во второй зоне (33,3 (27,6;40,5)%). В третьей зоне доля p53 позитивных нейронов была достоверно меньшей ($p<0,01$), чем во второй и составила 26,1 (18,2;33,3)% (Рисунок 7.9). При этом в зонах 2 и 3 в p53 положительных нейронах отмечалась слабая интенсивность иммуногистохимической реакции NSE. Яркая реакция NSE в этих же образцах сочеталась с

отсутствием экспрессии других исследуемых белков реализации апоптоза (каспазы 3, каспаза 8).

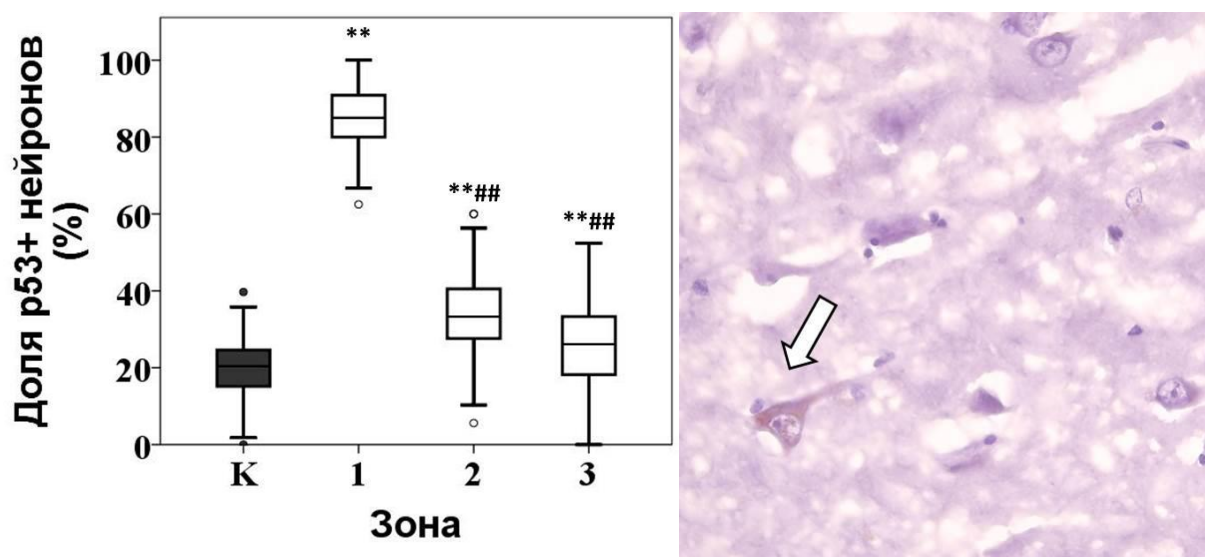


Рисунок 7.9 Слева - доля p53 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К). Справа - p53 позитивный нейрон (указан стрелочкой) во 2-й зоне коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция p53, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

Максимальное процентное содержание нейронов, экспрессирующих каспазу 3 (88,2 (81,3;94,1)%) отмечалось в образцах 1-й зоны. По мере удаления от очага ишемии оно достоверно уменьшалось до 50 (41,9;55,6)% во 2-й зоне исследования и 39,3 (34;44,4)% в 3-й. Во всех зонах образцов коры головного мозга после ИИ отличия были достоверными ($p < 0,01$) от показателей группы контроля (19,7 (13,4;26,3)%) (Рисунок 7.10).

Каспаза 8 в образцах 1-й зоны была выявлена в 73,1 (66,7;78,6)% нейронов, во второй зоне – в 70,4 (65,6;75,8)%, что достоверно ($p < 0,01$) отличалось от первой. В третьей зоне процентное содержание каспаза 8 позитивных нейронов составило 48,5 (42,9;54,5)%. Это также достоверно отличалось как от показателей образцов 2-й зоны, так и от группы контроля 36,2 (28;42,2)% (Рисунок 7.11).

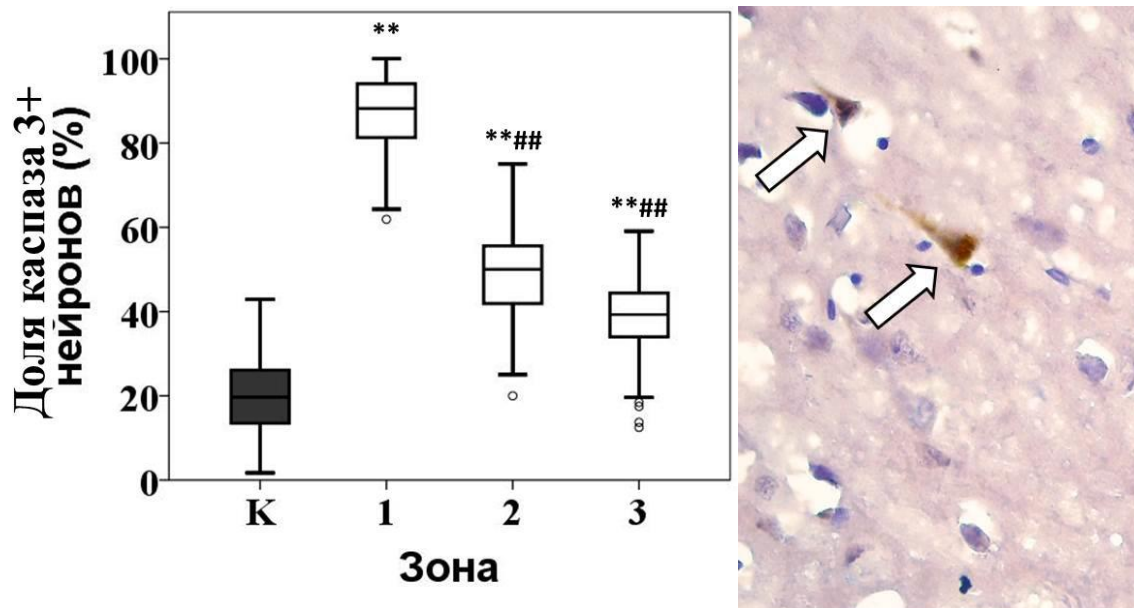


Рисунок 7.10 Слева - доля каспаза 3 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К). Справа - каспаза 3 позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента после ИИ (ИГХ реакция каспаза 3, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

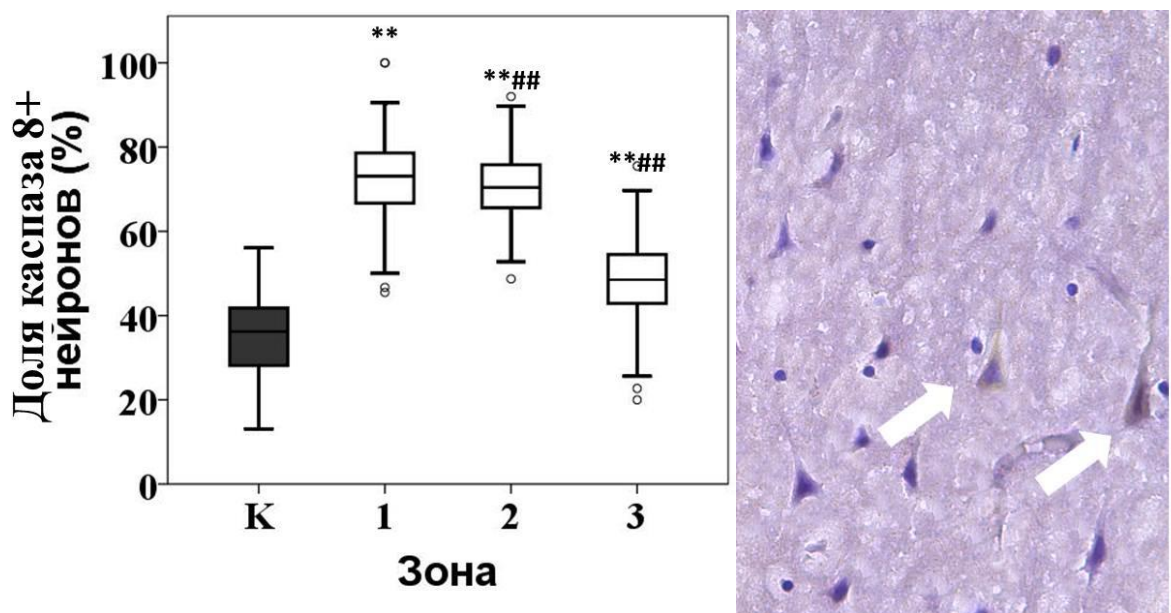


Рисунок 7.11 Слева- доля каспаза 8 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К). Справа - каспаза 8 позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента после ИИ (ИГХ реакция каспаза 8, увеличение X400)

Таким образом, для острейшего периода ИИ характерно увеличение доли экспрессирующих реализующих апоптоз белки нейронов в коре головного мозга по сравнению с группой контроля. Характерной закономерностью является уменьшение доли p53, каспаза 8, каспаза 3 – позитивных клеток по мере удаления от ядра ишемии.

Распространенность и локализация экспрессирующих реализующие апоптоз белки p53, каспаза 8, каспаза 3 нейронов в коре головного мозга не коррелировала с тяжестью неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS, ни для одной исследуемой зоны. Это свидетельствует о стереотипном ответе на ишемическое повреждение независимо от его клинической тяжести.

Не было выявлено достоверных связей между общей численной плотностью нейронов, общей численной плотностью поврежденных нейронов, астронейрональным индексом и долями p53, каспаза 8, каспаза 3 – позитивных нейронов.

На долю p53 и каспаза 8 позитивных нейронов не оказывала влияния концентрация в периферической крови ни одного из исследованных эффекторов стресс-реализующих систем и регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений.

В зонах 2 и 3 выявлены достоверные корреляционные связи доли каспаза 3 – позитивных нейронов с концентрацией в периферической крови ИЛ-6 и кортизола. При этом с повышением концентрации кортизола увеличивалась доля экспрессирующих каспазу 3 нейронов как в зоне 2 ($r=0,263$, $p<0,01$), так и в зоне 3 ($r=0,383$, $p<0,01$). С увеличением концентрации ИЛ-6 во 2-й зоне доля каспаза 3 позитивных нейронов увеличивалась ($r=0,152$, $p<0,05$), в зоне 3 – уменьшалась ($r=-0,143$, $p<0,05$) (Таблица 7.4).

Таблица 7.4 Достоверные коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентраций гормонов стресс-реализующей системы, эффекторов регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α на 1-е сутки исследования и количественных показателей морфологических изменений в коре головного мозга у пациентов, умерших в остром периоде ИИ

Показатель		Зона	Коэффициент корреляции
морфологический	клинический		
Доля каспаза 3 нейронов (%)	sFas (пг/мл)	2	-0.177*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	sFasL (пг/мл)	2	-0.164*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	sFasL/sFas (д. ед.)	3	0.240**
Доля каспаза 3 нейронов (%)	sFasL-эффективность (л/10 ⁹)	3	0.275**
Доля каспаза 3 нейронов (%)	TNF α (пг/мл)	1	0.155*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	TNF α (пг/мл)	3	0.231**
Доля каспаза 3 нейронов (%)	TNF α /sTNF-R1 (д.ед.)	2	-0.149*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	ИЛ-6 (пг/мл)	2	0.152*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	ИЛ-6 (пг/мл)	3	-0.143*
Доля каспаза 3 нейронов (%)	Кортизол (нмоль/л)	2	0.263**
Доля каспаза 3 нейронов (%)	Кортизол (нмоль/л)	3	0.383**

Доля каспаза 3 позитивных нейронов в 1-й и 3-й зонах коры головного мозга после ИИ также достоверно коррелировала с концентрацией TNF α в периферической крови ($r = 0,155$, $p < 0,05$ и $r = 0,231$, $p < 0,01$ соответственно для зон 1 и 3). В зоне 2 достоверной была корреляционная связь этого показателя с соотношением концентраций TNF α и sTNF-R1 ($r = -0,149$, $p < 0,05$). Во 2-й зоне отмечены достоверные отрицательные корреляционные связи с концентрациями sFas ($r = -0,177$, $p < 0,05$) и sFasL ($r = -0,164$, $p < 0,05$), в 3-й зоне – достоверные положительные корреляционные связи с соотношением концентраций sFasL и sFas ($r = 0,240$, $p < 0,01$) и с показателем sFasL-эффективности ($r = 0,275$, $p < 0,01$).

Таким образом, по выраженности неврологического дефицита в клинической картине ИИ нельзя прогнозировать долю нейронов, реализующих программу апоптоза в коре головного мозга. Определяющими факторами для доли каспаза 3 позитивных нейронов являются концентрации ИЛ-6, кортизола и TNF α в периферической крови. Концентрации

растворимых лигандов и рецепторов системы Fas оказывают различное модулирующее влияние на экспрессию нейронами головного мозга каспазы 3 в зависимости от их удаленности от очага ишемического повреждения [21, 22, 92, 95, 532].

7.3 Закономерности экспрессии рецепторов, лигандов системы Fas и Fas-апоптоз ингибиторной молекулы-2 (FAIM2) нейронами коры головного мозга после ишемического инсульта

Доля нейронов, экспрессирующих мембранные формы рецепторов Fas, в 1-й зоне исследования была наибольшей (35,3 (30,4;40)%) и достоверно ($p<0,01$) отличалась от группы контроля (7 (4,5;10,3)%) (Таблица 7.5). Во 2-й и 3-й зонах их количество достоверно снижалось соответственно до 28,6 (24,1;34,3)% и 10,4 (6,1;15,2)% (Рисунок 7.12). При этом только в 3-й зоне увеличение доли Fas позитивных нейронов соответствовало увеличению доли каспаза 8 позитивных нейронов ($r=0,174$, $p<0,05$).

Таблица 7.5 Количественные показатели морфологических закономерностей экспрессии рецепторов, лигандов системы Fas и Fas-апоптоз ингибиторной молекулы-2 (FAIM2) нейронами коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ

Показатель	Контроль	Зона		
		1	2	3
Доля Fas+ нейронов (%)	7 (4,5;10,3)	35,3 (30,4;40)**	28,6 (24,1;34,3)**##	10,4 (6,1;15,2)**##
Доля FasL+ нейронов (%)	75,5 (66,7;81,5)	63,6 (58,3;70)**	78,1 (71,4;85,7)*##	89,1 (81,4;93)**##
Доля FAIM2+ нейронов (%)	72,4 (66,1;76,8)	47,1 (42,9;52,9)**	73 (67,9;78,9)##	59 (52,9;63,8)**##
Доля FasL+ ненейрональных клеток (%)	11,8 (8,7;16,3)	29,7 (26,4;34,6)**	19 (14,3;23,8)**##	15,4 (10;20)*##

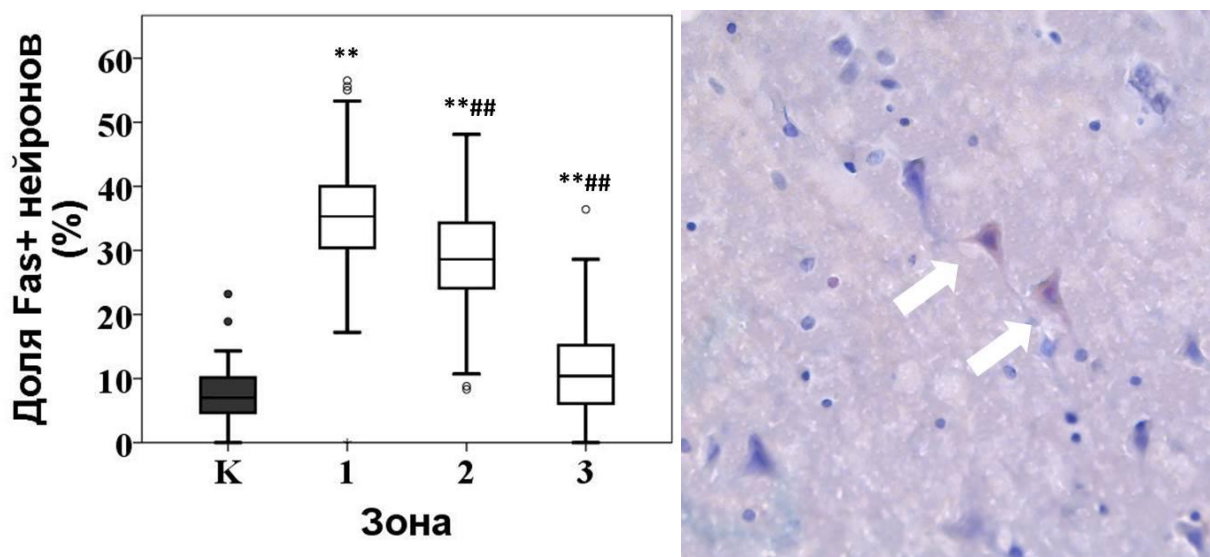


Рисунок 7.12 Слева - доля Fas позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К). Справа - Fas позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента после ИИ (ИГХ реакция Fas, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

Экспрессия мембранных лигандов Fas была выявлена на 63,6 (58,3;70)% NSE позитивных клеток в 1-й зоне, что достоверно ($p<0,01$) отличалось от контрольных образцов (75,5 (66,7;81,5)%) в меньшую сторону, тогда как для зон 2 и 3 было характерно достоверное увеличение доли нейрональных клеток, экспрессирующих FasL соответственно до 78,1 (71,4;85,7)% ($p<0,05$) и 89,1 (81,4;93)% ($p<0,01$). Увеличение доли FasL-положительных нейронов по мере удаления от ишемического очага может быть механизмом саногенеза для предотвращения взаимодействия с FasL других клеточных элементов путем активации на них рецепторов смерти.

Доля FasL позитивных ненейрональных клеток в группе контроля была наименьшей (11,8 (8,7;16,3)%), что достоверно отличалось от показателей образцов группы исследования. Так для 3-й зоны значение этого показателя составило 15,4 (10;20)%, далее доля FasL позитивных ненейрональных клеток достоверно увеличивалась ($p<0,01$) по мере приближения к ишемическому очагу и во 2-й зоне составила - 19 (14,3;23,8)%, а в 1-й - 29,7 (26,4;34,6)% (Рисунок 7.13).

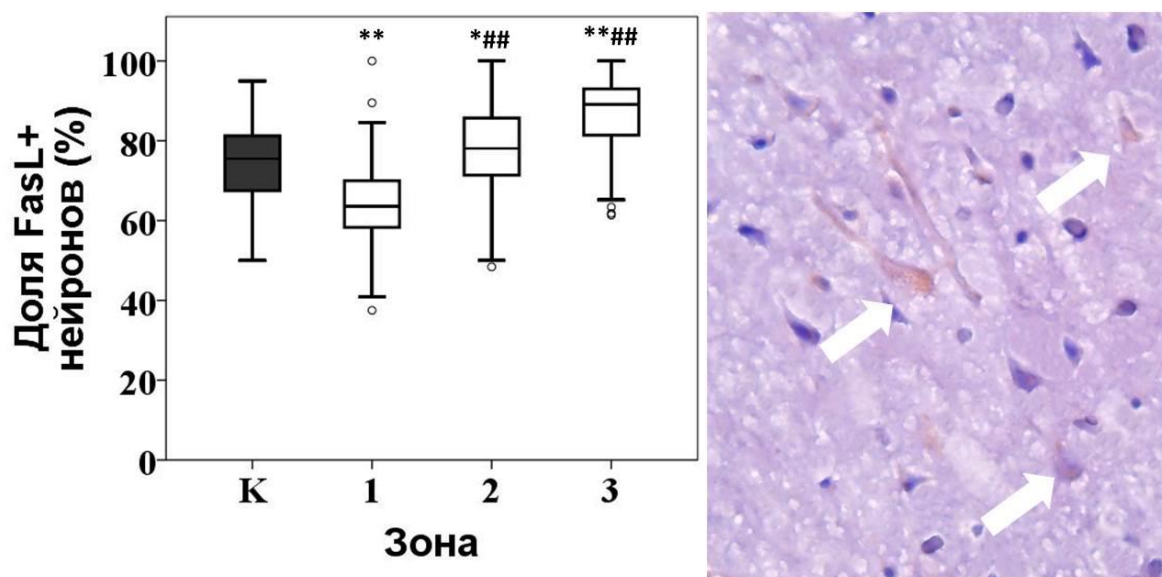


Рисунок 7.13 Слева - доля FasL позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К). Справа - FasL позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента после ИИ (ИГХ реакция Fas, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6

Максимальная представленность FasL позитивных ненеурональных клеток в 1-й зоне может быть объяснена наличием лейкоцитарной инфильтрации. В 1-е сутки после развития ишемического инсульта в периферической крови достоверно ($p < 0,01$) возрастало абсолютное и относительное количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов.

В 3-й зоне прослеживалась следующая закономерность: уменьшение доли Fas и каспаза 8 позитивных нейронов с увеличением доли FasL позитивных ненеурональных клеток (соответственно $r = -0,160$, $p < 0,05$ и $r = -0,211$, $p < 0,01$). Корреляционные связи между этим параметром и общей численной плотностью нейронов, а также общей численной плотностью поврежденных нейронов не выявлены. Следовательно, в этой зоне Fas-опосредованный апоптоз не является основным механизмом гибели нейронов.

Доля FAIM2 позитивных нейронов во 2-й зоне составляла 73 (67,9;78,9)% и достоверно от показателей образцов в группе контроля не

отличалась (72,4 (66,1;76,8)%) (Рисунок 7.14). В остальных зонах исследования отличия от контроля были достоверными ($p < 0,01$), а значения показателей – меньшими. Так, в 1-й и 3-й зонах они составили 47,1 (42,9;52,9)% и 59 (52,9;63,8)% соответственно. При этом в контрольной группе была прямая достоверная корреляционная связь между долей экспрессирующих FAIM2 нейронов и долей p53-позитивных нейронов ($r = 0,282$, $p < 0,05$), а в 3-ей зоне - обратная ($r = -0,177$, $p < 0,05$). Для 2-й зоны был получен отрицательный коэффициент корреляции доли FAIM2 позитивных нейронов и доли нейронов, экспрессирующих casp3 ($r = -0,183$, $p < 0,05$), а в 1-й зоне – мембранную форму FasL ($r = -0,148$, $p < 0,05$). Это свидетельствует в пользу того, что после ишемического повреждения головного мозга в нейронах коры головного мозга конкурируют за возможность реализации механизмы адаптации и программируемой гибели. В контрольных образцах наблюдается параллельное сосуществование и синергия этих процессов.

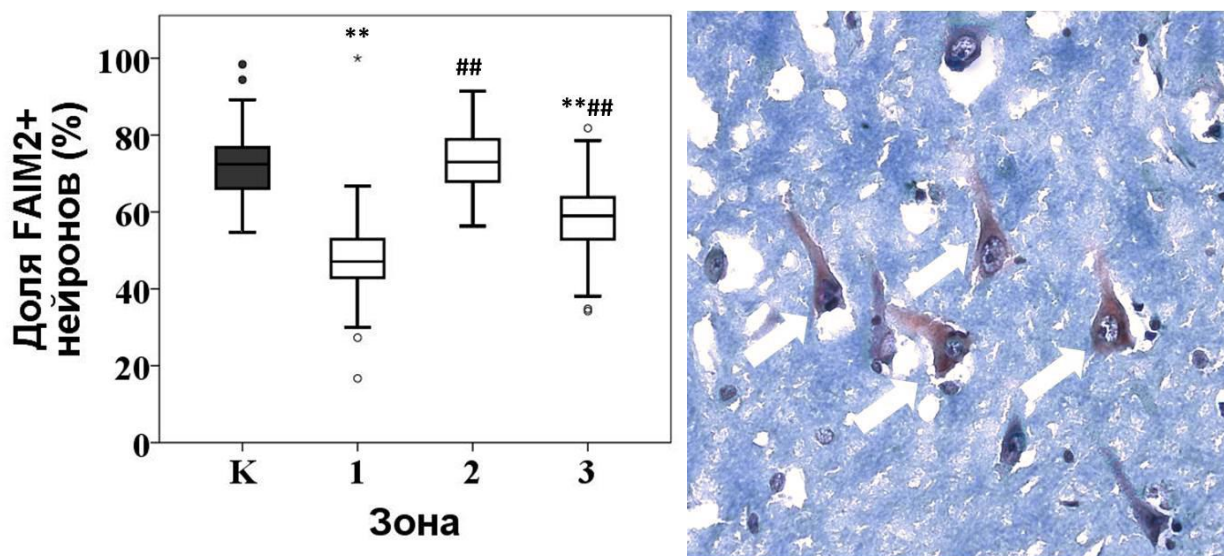


Рисунок 7.14 Слева - доля FAIM2 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ и группы контроля (К). Справа - FAIM2 позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция FAIM2, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

Таким образом, для острейшего периода ИИ характерно наличие противоположных закономерностей экспрессии FasL и Fas в нейронах коры

головного мозга. Они заключаются в снижении представленности Fas-позитивных нейронов и увеличении доли FasL-позитивных нейронов по мере удаления от ишемического очага. Наименьшая доля FAIM2 позитивных нейронов в 1-й зоне обеспечивает наибольшую вероятность развития Fas-регулируемого апоптоза расположенных в ней нейронов. Максимальная доля FAIM2 позитивных нейронов во второй зоне связана с большей (по сравнению с 3-й зоной) представленностью в ней рецептора Fas, связанного с этим белком. Также это может свидетельствовать о том, что здесь наиболее активно реализуются процессы нейропластичности, направленные на формирование новых межнейронных взаимодействий и перераспределение старых. Важным результатом является и выявление достоверных отличий между значением исследуемых показателей группы контроля и расположенной в контралатеральном очагу полушарии 3-й зоной. Это свидетельствует о том, что изменения при локальной церебральной ишемии затрагивают противоположное полушарие.

Полученные факты позволяют сделать выводы о том, что при ишемическом повреждении головного мозга увеличивается эффективность атаки регулирующими апоптоз лигандами рецепторов Fas и TNF α (в периферической крови увеличивается соотношение концентраций растворимых форм лигандов и рецепторов, которые по данным исследования коррелирует с долей нейронов, экспрессирующих их мембранные формы), в том числе и на поверхности нейронов. При этом в 1-й зоне низкая доля FAIM2 положительных нейронов может свидетельствовать о высокой вероятности их ответа на такое лиганд-рецепторное взаимодействие развитием клеточной гибели. Таким образом, диапазон возможных адаптационных решений (возможных вариантов изменения функционирования нейрона при изменении среды микроокружения) в этой зоне сужен. Таким образом, в 1-й зоне по сравнению с другими исследованными ответ нейронов на любую стимуляцию характеризуется максимальной ригидностью.

Для второй зоны, однако, в меньшей степени по сравнению с первой, характерно увеличение эффективности атаки регулируемыми апоптоз лигандами рецепторов Fas. При этом максимальная доля FAIM2 положительных нейронов, свидетельствует о большей, чем в других зонах, возможности нейронов отвечать на регулирующий апоптоз стимул не активацией сигнальных каскадов, ведущих клетку к самоуничтожению, а тех, которые ведут к адаптивными перестройками ее структуры и функции (выживание, синаптогенез, спраутинг, прунинг). Таким образом, во 2-й зоне по сравнению с другими исследованными ответ нейронов на стимуляцию характеризуется широким диапазоном возможных адаптационных решений.

В зоне 3 за счет наименьшей представленности нейронов, экспрессирующих рецепторы смерти Fas, и наибольшей – FasL, снижена вероятность взаимодействия рецепторов смерти на нейронах со своими лигандами с последующей реализацией внутриклеточных сигнальных каскадов, ведущих к гибели. Это подтверждается тем, что в зоне 3 выявлена наименьшая доля p53, каспаза 3, каспаза 8 положительных нейронов. Доля FAIM2 положительных нейронов в этой зоне достоверно меньше, чем во 2-й, что свидетельствует о меньшем диапазоне возможных адаптационных решений в зоне 3 по сравнению с зоной 2.

Обобщая, можно сделать заключение, что зона 2 с ее максимальной чувствительностью к воздействию регулирующих апоптоз факторов и максимальным диапазоном адаптационного ответа, обладает наибольшим нейропластическим потенциалом для восстановления утраченных функциональных межнейронных связей. Вероятно, в этой зоне высока потребность в обеспечении энергетическими и пластическими субстратами, а также в целенаправленной стимуляции нейронов к образованию связей, которые обеспечат восстановление пациента. Такая стимуляция возможна при адекватной реабилитационной стратегии [222, 361].

В 3-ей зоне терапевтические усилия целесообразно направлять на уменьшение стабильности системы, увеличение восприимчивости в том

числе к регулирующим апоптоз факторам и расширение диапазона адаптационного ответа, сопряженного с экспрессией FAIM2.

В 1-й зоне любое изменение микроокружения нейрона (в том числе связанное с терапевтическими вмешательствами), приводящее к смещению равновесия внутриклеточных сигнальных систем, с большей вероятностью будет вызывать реализацию клеточной гибели. Что подтверждается наибольшей долей p53, каспаза 3, каспаза 8 положительных нейронов в этой зоне. Эта зона не является перспективной терапевтической мишенью, попытки сохранения в ней жизнеспособности нейронов, вероятно, нецелесообразны. Основная терапевтическая задача состоит в оптимизации ограничения за счет нее ишемического очага от жизнеспособной функционально активной нервной ткани.

Доля Fas-положительных нейронов достоверно коррелировала с концентрацией растворимой формы этой молекулы и соотношением концентраций sFasL и sFas в периферической крови в 1-е сутки исследования (Таблица 7.6). Это обосновывает возможность перекрестного прогнозирования и экстраполяции данных о динамике концентрации растворимых форм и представленности мембранных в нейронах коры головного мозга рецепторов и лигандов системы Fas. Так, для sFasL коэффициенты корреляции составили для 1-й зоны - $r = 0,222$, для 2-й зоны - $r = 0,438$, для 3-й зоны - $r = 0,289$, $p < 0,01$; для соотношения концентраций sFasL и sFas соответственно: $r = 0,231$, $r = 0,266$ и $r = 0,281$, $p < 0,01$. При этом для мембранной формы рецептора системы Fas, а также для Fas-апоптоз ингибиторной молекулы-2 (FAIM2) корреляционные связи с вышеуказанными показателями были недостоверными. Абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов достоверно коррелировало с долей Fas (CD95) положительных нейронов во 2-й зоне ($r = 0,159$, $p < 0,05$), а относительное - в 3-й ($r = -0,148$, $p < 0,05$).

Таблица 7.6 Достоверные коэффициенты корреляции и их р-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентраций гормонов стресс-реализующей системы, эффекторов регулирующих апоптоз систем Fas и TNF α на 1-е сутки исследования и количественных показателей экспрессии рецепторов, лигандов системы Fas и Fas-апоптоз ингибиторной молекулы-2 (FAIM2) нейронами коры головного мозга у пациентов, умерших в остром периоде ИИ

Показатель		Зона	Коэффициент корреляции
морфологический	клинический		
Доля FasL+ нейронов (%)	NIHSS (баллы)	1	0.191**
Доля FasL+ нейронов (%)	NIHSS (баллы)	2	0.427**
Доля FasL+ нейронов (%)	NIHSS (баллы)	3	0.294**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL (пг/мл)	1	0.222**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL (пг/мл)	2	0.438**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL (пг/мл)	3	0.289**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL/sFas (д. ед.)	1	0.231**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL/sFas (д. ед.)	2	0.266**
Доля FasL+ нейронов (%)	sFasL/sFas (д. ед.)	3	0.281**
Доля FasL+ нейронов (%)	ИЛ-6 (пг/мл)	2	-0.188**
Доля FasL+ нейронов (%)	Адреналин (пг/мл)	3	0.219**
Доля FasL+ нейронов (%)	Норадреналин (пг/мл)	2	0.410**
Доля FasL+ нейронов (%)	Норадреналин (пг/мл)	3	0.230**
Доля FasL+ нейронов (%)	Кортизол (нмоль/л)	2	-0.212**
Доля FasL+ нейронов (%)	АКТГ (пг/мл)	1	-0.152*
Доля FasL+ нейронов (%)	АКТГ (пг/мл)	2	-0.362**
Доля FasL+ нейронов (%)	АКТГ (пг/мл)	3	-0.264**
Доля FAIM2+ нейронов (%)	NIHSS (баллы)	2	0.145*

Схожая картина наблюдалась и в отношении эффекторов системы TNF α . Так, во всех зонах исследования выявлены достоверные зависимости доли FasL позитивных нейронов от концентрации эффекторов системы TNF α в периферической крови: для sTNF-R1 – обратные (соответственно для 1, 2 и 3 зоны $r = -0,208$, $r = -0,337$ и $r = -0,265$, $p < 0,01$), для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 – прямые (соответственно для 1, 2 и 3-й зоны $r = 0,192$, $r = 0,416$ и $r = 0,265$, $p < 0,01$). В зоне 2 достоверная корреляционная

связь выявлена также для концентрации TNF α в периферической крови и доли FasL позитивных нейронов ($r = -0,259$, $p < 0,01$) в образцах головного мозга. Для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 и доли FAIM2-позитивных нейронов получен коэффициент $r = 0,166$, $p < 0,05$). Таким образом, в острейшем периоде ИИ увеличение эффективности атаки растворимыми регулирующими механизмы реализации апоптоза лигандами соответствует усилению экспрессии нейронами лигандов смерти системы Fas и сопряженных с рецептором Fas связанных с ингибированием сигнальных путей программируемой гибели клетки молекул FAIM2.

При корреляционном анализе с показателями концентраций гормонов стресс-реализующей системы в периферической крови были выявлены следующие достоверные корреляционные связи. Доля Fas-позитивных нейронов в образцах коры головного мозга не коррелировала ни с одним из исследованных параметров.

Во 2-й зоне наблюдалось максимальное количество достоверных корреляционных связей. Так, доля FasL позитивных нейронов достоверно коррелировала с концентрацией АКТГ ($r = -0,362$, $p < 0,01$), кортизола ($r = -0,212$, $p < 0,01$), норадреналина ($r = 0,410$, $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = -0,188$, $p < 0,01$). В этой же зоне выявлена отрицательная корреляционная связь концентрации кортизола с долей FAIM2 позитивных нейронов ($r = -0,177$, $p < 0,05$).

В 1-й зоне из всех рассмотренных параметров коррелировали лишь концентрация АКТГ в периферической крови и доля FasL позитивных нейронов ($r = -0,152$, $p < 0,05$). В 3-й зоне доля FasL позитивных нейронов достоверно коррелировала с концентрацией в периферической крови адреналина ($r = 0,219$, $p < 0,01$), норадреналина ($r = 0,230$, $p < 0,01$), АКТГ ($r = -0,264$, $p < 0,01$).

Доля FasL позитивных нейронов в коре головного мозга достоверно коррелировала с тяжестью неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS во всех исследуемых зонах (соответственно для 1, 2 и 3 зоны $r = 0,191$, $r = 0,427$, $r = 0,294$, $p < 0,01$). Также с тяжестью

неврологического дефицита коррелировала доля FAIM2 позитивных нейронов во 2 зоне исследования.

Таким образом, максимальное модулирующее действие на регуляцию механизмов апоптоза гормоны стресс-реализующей системы оказывают во 2-й зоне, при этом (учитывая отрицательный коэффициент корреляции его концентрации с долей FAIM2 позитивных нейронов) повышение концентрации кортизола приводит к сужению диапазона адаптационных решений и повышает вероятность реализации программируемой клеточной гибели (исходя из положительных значений коэффициентов корреляции концентрации кортизола с долей экспрессирующих реализующие апоптоз белки нейронов) [96, 99].

7.4 Закономерности экспрессии в нейронах коры головного мозга белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1 после ишемического инсульта.

Доля c-fos позитивных нейронов во всех зонах коры головного мозга после ИИ была выше, чем в контрольных образцах ($p < 0,01$), где она составила 18,8 (15,3;23,8)% (Таблица 7.7). Наибольшей она была во 2-й зоне (36,4 (31,3;42,4)%). В 1-й и 3-й зоне величина этого показателя составила соответственно 27,8 (20;33,3)% и 32,6 (28,2;38,1)% (Рисунок 7.15).

Таблица 7.7 Количественные показатели морфологических закономерностей экспрессии белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1 нейронами коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ

Показатель	Контроль	Зона		
		1	2	3
Доля c-fos+ нейронов (%)	18,8 (15,3;23,8)	27,8 (20;33,3)**	36,4 (31,3;42,4)**##	32,6 (28,2;38,1)**##
Доля ERK1/2+ нейронов (%)	75 (69;78)	57,1 (52,9;61,5)**	75,8 (69,7;80)##	73,5 (68,6;77,3)##
Доля MAP2+ нейронов (%)	86,7 (78;92,5)	76,9 (68,8;82,4)**	86,7 (80;93,5)##	88,1 (78,6;93,8)
Доля Notch1+ нейронов (%)	30,8 (25,4;35,8)	42,1 (36,4;46,7)**	38,5 (34,4;43,2)**##	33,3 (28,2;39,5)**##

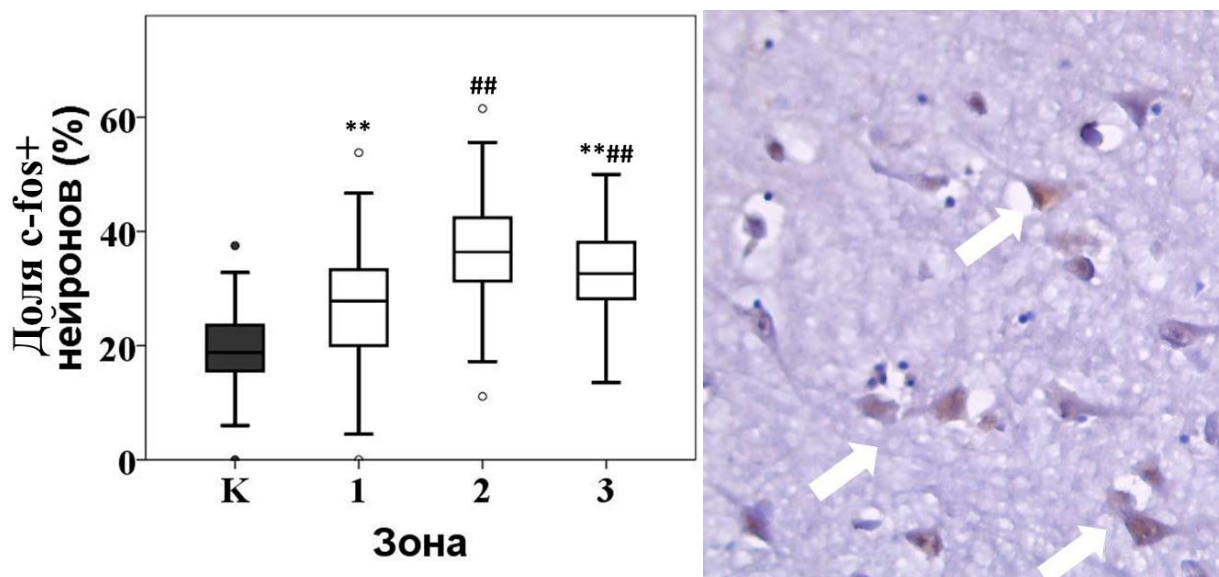


Рисунок 7.15 Слева - доля c-fos позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ и группы контроля (К). Справа - c-fos позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция протеина c-fos, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6

Доли ERK1/2 и MAP2 положительных нейронов достоверно отличалась от группы контроля (соответственно 75 (69;78)% и 86,7 (78;92,5)%) только в образцах коры головного мозга из 1-й зоны (57,1 (52,9;61,5)% и 76,9 (68,8;82,4)%) (Рисунок 7.16, Рисунок 7.17). В 1-й и 2-й зонах были выявлены достоверные положительные корреляционные связи между долей ERK1/2 и c-fos-позитивных нейронов (соответственно для 1 и 2 зоны $r = 0,277$ и $r = 0,211$, $p < 0,01$). Во 2-й зоне взаимное увеличение доли экспрессирующих вышеуказанные маркеры нейрональной активации [270, 392] нейронов также сопровождалось положительной корреляционной связью доли экспрессирующих белок нейрональной дифференцировки MAP2 с долей FAIM2-позитивных нейронов ($r = 0,160$, $p < 0,05$). При этом между долями MAP2 и каспаза 3 позитивных нейронов отмечена достоверная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,165$, $p < 0,05$). Такие результаты свидетельствуют о возможной конкуренции процесса нейрональной активации, сопряженной с адаптацией и выживанием, и процесса апоптоза.

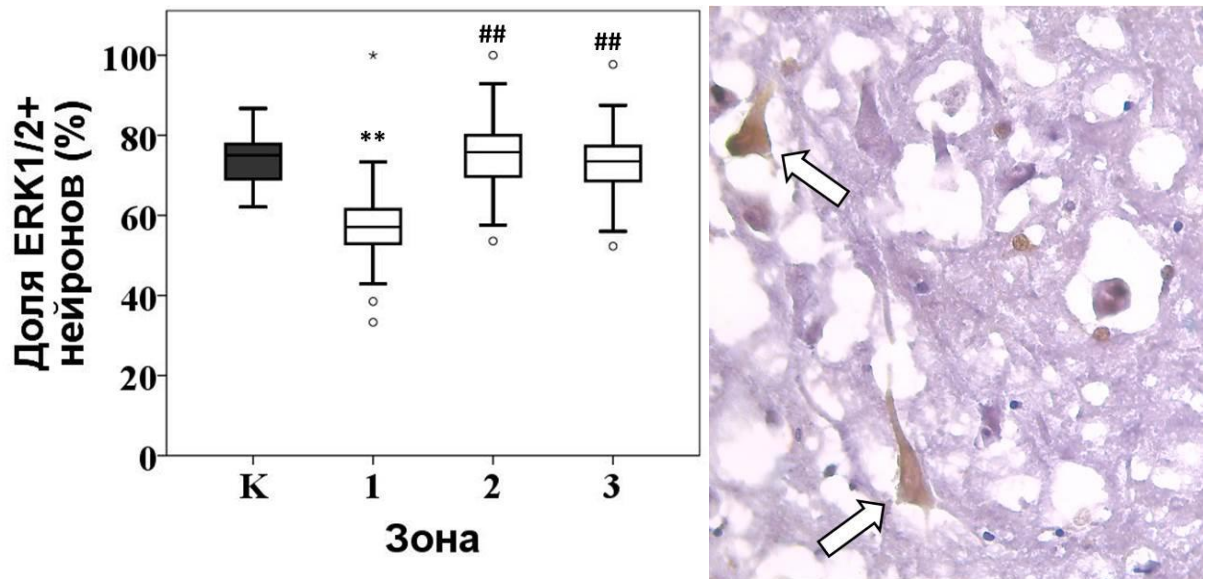


Рисунок 7.16 Слева - доля ERK1/2 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ и группы контроля (К). Справа - ERK1/2 позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция ERK1/2, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

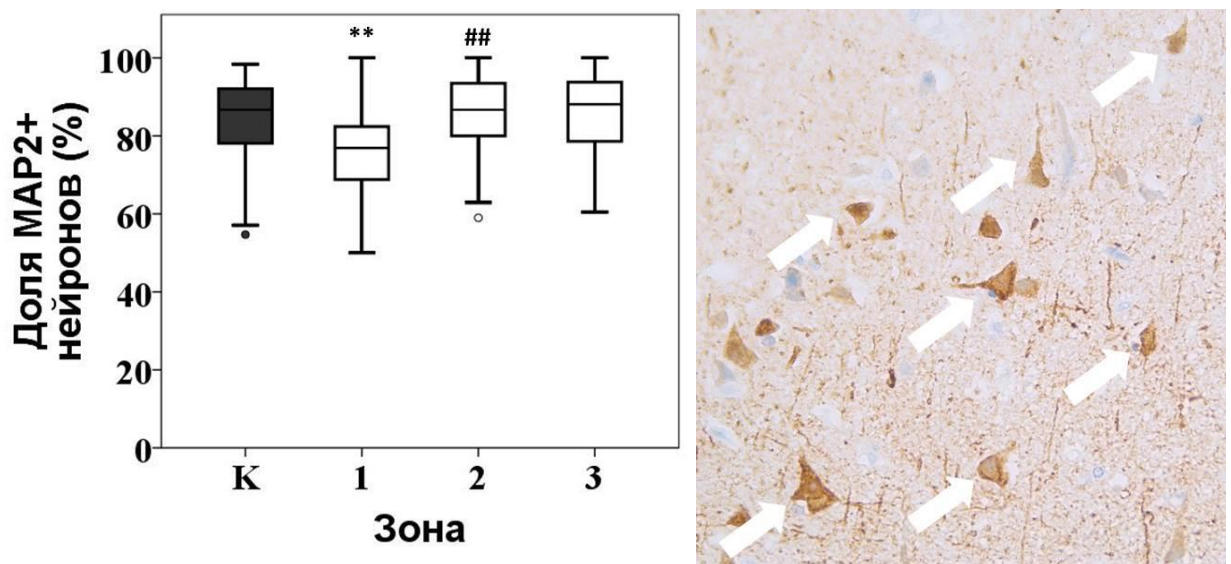


Рисунок 7.17 Слева - доля MAP2 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ и группы контроля (К). Справа - MAP2 позитивные нейроны в зоне 2 коры головного мозга («зоне пенумбры») пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция MAP2, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6.

Доля Notch1 позитивных нейронов была максимальной в 1-й зоне и составляла 42,1 (36,4;46,7)%. По мере удаления рассматриваемого образца от очага ишемии показатель становился меньше ($p<0,01$): во 2-й зоне 38,5 (34,4;43,2)%, в 3-й зоне 33,3 (28,2;39,5)%. Во всех образцах после ИИ отличия от контрольных образцов (30,8 (25,4;35,8)%) были достоверными ($p<0,01$). Такая динамика доли Notch1 положительных нейронов при удалении от очага ишемии была схожа с динамикой долей каспаза 3, 8 и p53 позитивных нейронов (Рисунок 7.18).

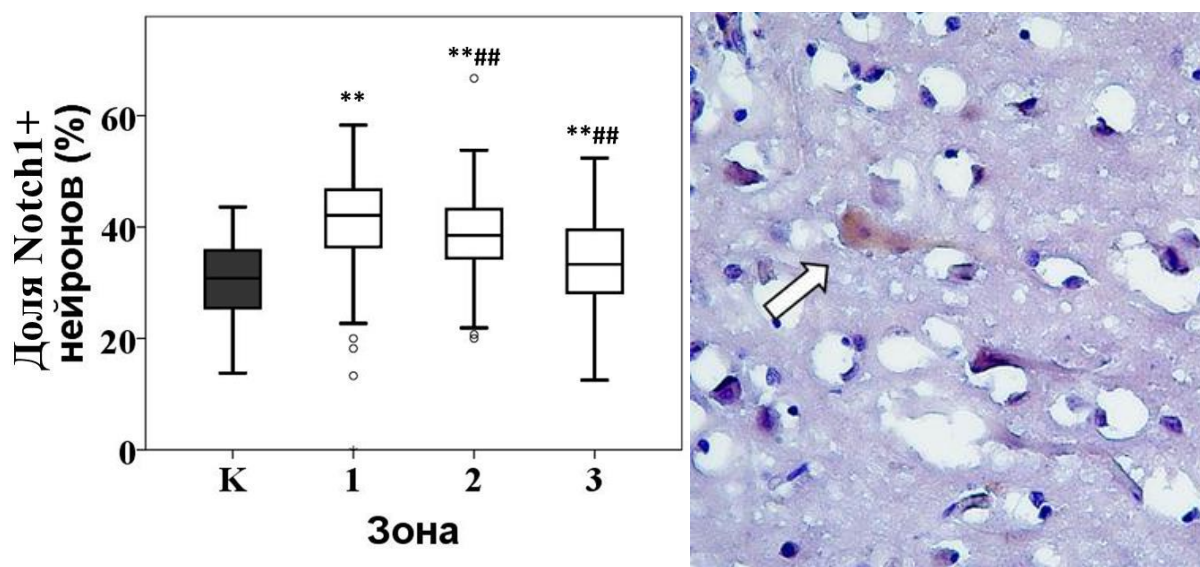


Рисунок 7.18 Слева - доля Notch1 позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов, умерших после ИИ и группы контроля (К). Справа - Notch1 позитивные нейроны в зоне 1 коры головного мозга пациента, умершего после ИИ (ИГХ реакция Notch1, увеличение X400), другие обозначения, как на рисунке 7.6

В 1-й зоне доля Notch1 позитивных нейронов достоверно положительно коррелировала с соотношением концентраций sFasL и sFas ($r=0,163$, $p<0,05$), с величиной sFasL-эффективности ($r=0,146$, $p<0,05$) и с концентрацией адреналина в периферической крови ($r=0,249$, $p<0,01$). В зоне 2 представленность экспрессирующих маркеры нейрональной активации нейронов практически не соотносилась с концентрацией исследуемых показателей периферической крови: достоверная корреляционная связь выявлена лишь между долей Notch1 позитивных нейронов и концентрацией

адреналина ($r = -0,148$, $p < 0,05$). В 3-й зоне доля c-fos позитивных нейронов коррелировала с соотношением концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1 ($r = -0,181$, $p < 0,05$), концентрацией адреналина ($r = -0,159$, $p < 0,05$) и АКТГ ($r = 0,153$, $p < 0,05$) (Таблица 7.8).

Таблица 7.8 Достоверные коэффициенты корреляции и их p-уровень (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) концентраций гормонов стресс-реализующей системы, эффекторов регулирующих апоптоз систем Fas и $\text{TNF}\alpha$ на 1-е сутки исследования и количественных показателей экспрессии в нейронах коры головного мозга белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1 у пациентов, умерших в остром периоде ИИ

Показатель		Зона	Коэффициент корреляции
морфологический	клинический		
Доля c-fos нейронов (%)	NIHSS (баллы)	1	-0.147*
Доля c-fos нейронов (%)	NIHSS (баллы)	3	-0.185*
Доля c-fos нейронов (%)	$\text{TNF}\alpha/\text{sTNF-R1}$ (д.ед.)	3	-0.181*
Доля c-fos нейронов (%)	Адреналин (пг/мл)	3	-0.159*
Доля c-fos нейронов (%)	АКТГ (пг/мл)	3	0.153*
Доля Notch1+ нейронов (%)	sFasL/sFas (д. ед.)	1	0.163*
Доля Notch1+ нейронов (%)	sFasL-эффективность (л/ 10^9)	1	0.146*
Доля Notch1+ нейронов (%)	Адреналин (пг/мл)	1	0.249**
Доля Notch1+ нейронов (%)	Адреналин (пг/мл)	2	-0.148*

Опираясь на полученные данные можно сделать предположение о том, что для 1-й зоны из всех исследованных параметров наиболее вероятной мишенью воздействия является сигнальный путь Notch1, активация которого в нейронах этой зоны коррелирует с показателями регулирующей апоптоз системы Fas и адреналина. Для 3 зоны ключевым параметром является доля экспрессирующих белок c-fos нейронов, которая коррелирует с концентрациями $\text{TNF}\alpha$ и адреналина в периферической крови.

Описанный результат в совокупности с данными о снижении доли FAIM2 и ERK1/2 положительных нейронов, а также снижением доли нейронов положительных по MAP2 (который ряд авторов рассматривает как маркер нейрональной дифференцировки) подтверждает предположение о том, что в 1-й зоне характерно снижение диапазона возможных

адаптационных решений и повышение вероятности гибели нейронов при любом изменении их микроокружения.

Для 2-й и 3-й зон снижению представленности доли Notch1 позитивных нейронов соответствует повышение доли нейронов, положительных по MAP2, ERK1/2 и FAIM2, что может свидетельствовать о повышении способности системы к выживанию и расширении диапазона адаптационных возможностей. Во 2-й зоне максимальная представленность c-fos позитивных нейронов свидетельствует о наибольшей вовлеченности этой зоны в процессы нейропластичности. Вероятно, это связано с тем, что в этой зоне наибольшее количество нейронов принадлежит к частично поврежденным в результате ИИ нейронным сетям. При этом нервные клетки не испытывают столь выраженной субстратной и кислородной депривации как в зоне 1.

В целом результаты исследования патоморфологических закономерностей коры головного мозга при ИИ позволяют сделать следующие выводы и заключение.

Развитие ИИ сопровождается достоверными изменениями цитоархитектоники коры головного мозга.

Для ИИ характерно увеличение доли экспрессирующих реализующие апоптоз белки нейронов в коре головного мозга: увеличение представленности p53, каспаза 8, каспаза 3 позитивных клеток по мере приближения к ядру ишемии. Снижение во 2-й зоне доли Fas-позитивных нейронов и увеличение доли FasL-позитивных нейронов по мере удаления от ишемического очага, максимальная представленность FAIM2, c-fos, сопряженная с ERK1/2, а также снижение представленности доли Notch1 позитивных нейронов во 2-й зоне может свидетельствовать о повышении нейропластического потенциала нервной ткани этой зоны головного мозга. Увеличение активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы после ИИ, сопровождающейся повышением концентрации АКТГ и кортизола в периферической крови, приводит к снижению нейропластического потенциала коры головного мозга [103].

Глава 8 Обсуждение

8.1 Закономерности изменения лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в периферической крови в остром периоде ишемического инсульта

В настоящем диссертационном исследовании определены закономерности динамики растворимых регулирующих апоптоз молекул систем Fas и TNF α в периферической крови. Основными из них были закономерное увеличение в первые сутки после развития ИИ концентрации растворимых лиганда и рецептора Fas, а также увеличение концентрации TNF α . Причем в течение последующего острого периода ИИ концентрации эффекторов системы Fas прогрессивно нарастали, а концентрация TNF α снижалась уже в течение первой недели острого периода. Соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 увеличивалось при развитии ИИ в первые его сутки и оставалось повышенным в течение всего острого периода ИИ. Соотношение концентраций растворимых эффекторов системы Fas в общей группе пациентов после ИИ с течением времени достоверно не изменялось. Но после формирования подгрупп пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом в каждой из них были выявлены закономерные изменения. При этом соотношение растворимых лиганда и рецептора Fas достоверно увеличивалось в первые сутки после развития ИИ лишь у пациентов, чей уровень неврологического дефицита, выраженный в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода был больше 5 (подгруппа пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ). В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ, наблюдался рост этого показателя во временном интервале 7 – 21-е сутки после развития ИИ. Достоверные различия между выше представленными подгруппами были и для соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 [88, 89].

Учитывая сочетанное повышение и положительные корреляции между содержанием sFasL и sFas, TNF α и TNF-R1 в периферической крови и ликворе при различных патологических состояниях в экспериментальных и

клинических исследованиях других авторов [333, 407, 640], динамика их содержания в периферической крови в существенной мере отражает процессы, происходящие в головном мозге. Это можно объяснить изменением проницаемости гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) при развитии ИИ [629], а также физиологическими особенностями работы лимфатической системы и ликвородинамики [481]. Непосредственное влияние растворимых апоптозиндуцирующих рецепторов и лигандов периферической крови на находящиеся за ГЭБ нейроны минимально, однако возможно вследствие их прохождения через измененный при ИИ ГЭБ. Также увеличение их концентрации в крови ведет к замедлению их оттока по градиенту концентрации [629] и, как следствие, к увеличению воздействия на нейроны головного мозга. Поэтому закономерности динамики эффекторов апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α в периферической крови в остром периоде ИИ в этой работе в первую очередь рассматриваются как отражение динамики происходящих в головном мозге процессов и лишь в незначительной степени как непосредственный патогенетический фактор.

В 1-е сутки исследования, в острейшем периоде ИИ отмечалось достоверное увеличение концентрации регулирующих апоптоз лигандов - sFasL и TNF α - относительно значений группы контроля. С течением времени уровень sFasL в крови пациентов с ИИ прогрессивно нарастал и к концу его острого периода достигал максимального значения. Концентрация TNF α во все сроки исследования так же была достоверно выше, чем в группе контроля, однако, ее динамика была другой – происходило снижение уровня TNF α в периферической крови с максимально низкой концентрацией на 7-е сутки исследования.

Результаты работ других авторов не противоречат данным, полученным в этом исследовании. Так показано сочетанное повышение концентрации TNF α в сыворотке и цереброспинальной жидкости в первые сутки после развития ИИ на выборке из 23 пациентов с ИИ и 15 человек

группы контроля. При этом уровень TNF α коррелировал с тяжестью неврологического дефицита, что соответствует результатам настоящего диссертационного исследования [640]. Intiso D. и соавт. (2004) на выборке из 40 пациентов показали повышение концентрации TNF α в течение первых 10 дней после развития ИИ [314]. На выборке из 93 пациентов с ИИ и 47 группы контроля F.A. Bokhari (2014) показано значительное повышение концентрации TNF α в периферической крови в 1-е сутки после развития ИИ [176]. Повышенные концентрации TNF α в плазме пациентов, страдающих лакунарным инфарктом, были связаны с ранним неврологическим ухудшением и неблагоприятным функциональным исходом [489]. После экспериментального ИИ у крыс уровень TNF α в крови и цереброспинальной жидкости резко и значительно повышался, достигая пика через 12-24 часа и оставался повышенным в течение нескольких дней. В патоморфологических исследованиях было показано, что в ткани головного мозга пациентов с острым ИИ экспрессия TNF α – увеличивается [365] последовательно сначала в центральной области инфаркта, затем в периинфарктных областях, и затем в других отдаленных областях мозга, включая контралатеральное полушарие [629].

Сообщений о концентрации sFasL после ИИ гораздо меньше. Так, в исследовании Н.Н. Епифанцевой и соавт. (2009) на выборке пациентов с ИИ из 11 человек и 16 человек группы контроля изменения концентрации sFasL выявлено не было [19]. В исследовании Е.В. Константиновой и соавт. (2015) на выборке из 93 пациентов, перенесших ИИ по атеротромботическому подтипу и 62 добровольцев группы контроля было показано увеличение концентрации sFasL на 1 сутки заболевания с последующим достоверным увеличением на 7 сутки, при этом увеличение концентрации TNF α на 1-е сутки в этом исследовании было недостоверным [350].

Концентрации растворимых рецепторов sFas и sTNF-R1 на 1-е сутки исследования не отличались от значений группы контроля. К 7-м суткам концентрации увеличились и отличия от контроля были достоверными для

обоих показателей. К концу острого периода ИИ уровень sFas в периферической крови пациентов продолжал повышаться, тогда как концентрация sTNF-R1 снова не имела достоверных отличий от контроля. До настоящей работы в этой области все исследования выполнялись на небольших и неоднородных выборках, вероятно, поэтому полученные в них данные крайне противоречивы. Так, в проспективном исследовании, включавшем 23 пациента с острым ИИ и 20 пациентов с другими функциональными неврологическими расстройствами в качестве группы контроля, отмечено значительное повышение уровня sFas в сыворотке и спинномозговой жидкости на 1-й день от начала заболевания по сравнению с контрольными субъектами [407]. В клиническом проспективном исследовании на выборке из 30 человек с большим разбросом по возрастному показателю (от 40 до 80 лет), локализации и тяжести ИИ напротив наблюдалось снижение концентрации sFas в периферической крови и цереброспинальной жидкости по сравнению с контрольными значениями [567]. С. Augello и соавт. (2018) выявили у 24 пациентов с ИИ достоверное повышение концентрации sTNF-R1 после ИИ по сравнению с группой контроля, которую составили 26 здоровых добровольцев [150]. В проспективном клиническом исследовании H Christensen и соавт. (2002), в которое вошли 179 пациентов с ИИ, концентрация TNF-R1 была достоверно повышена через три месяца после ИИ по сравнению с днем поступления в стационар, однако дизайн этой работы не предполагал группы контроля [206].

Причинами увеличения концентрации регулирующих апоптоз факторов в периферической крови в остром периоде ИИ являются:

- Локальная экспрессия этих факторов в зоне ишемического повреждения
- Системный воспалительный ответ
- Специфический иммунный аутоагрессивный ответ на «забарьерные» антигены мозга

- Интенсификация процессов отщепления надмембранной части мембранных рецепторов и лигандов с образованием растворимых форм

Сочетанное повышение концентрации растворимых апоптозиндуцирующих лигандов в периферической крови в 1-е сутки после развития ИИ очевидно можно объяснить их связью с локальной асептической воспалительной реакцией в ответ на критическое падение уровня кислорода и субстратного обеспечения нервной ткани головного мозга [591]. Оно тем сильнее, чем тяжелее ишемическое поражение ткани, что в клинической картине заболевания отражается большей выраженностью неврологического дефицита. Это подтверждают положительные достоверные корреляционные связи между концентрацией апоптозиндуцирующих лигандов и уровнем неврологического дефицита, полученные в настоящем диссертационном исследовании, а также положительные корреляции концентрации отдельных регулирующих апоптоз факторов с объемом очага в работах других авторов [640]. В ряде экспериментов показана локальная экспрессия $\text{TNF}\alpha$ в ишемизированной ткани головного мозга животных и ее временные характеристики. Так, после окклюзии средней мозговой артерии у мышей в ишемизированной коре уже через 3 часа была повышена мРНК $\text{TNF}\alpha$, максимальное содержание наблюдалась через 12 часов. Через пять дней уровни мРНК $\text{TNF}\alpha$ в ишемизированной коре снизились, однако по сравнению с контролем были достоверно повышены. Иммуногистохимические исследования выявили присутствие белка $\text{TNF}\alpha$, локализованного в нервных волокнах, в развивающемся инфаркте через 6 и 12 часов после моделирования ИИ и дальнейшей экспрессии в тканях, непосредственно примыкающих к инфаркту. Через 5 дней количество нейронально локализованного $\text{TNF}\alpha$ значительно уменьшалось, и основным источником повышения уровня $\text{TNF}\alpha$ становились макрофаги, расположенные в инфарктных тканях, которые продолжали его экспрессировать. В эксперименте у мышей после 20-минутной ишемии, вызванной двусторонней окклюзией общей сонной артерии значительное

повышение уровня экспрессии мРНК TNF α нейронами в гиппокампе через 3 и 36 часов [444]. Доказана возможность экспрессии TNF α эндимальными и астроглиальными клетками во время ишемических состояний головного мозга [365]. Ряд исследовательских групп также делают вывод, что на ранней стадии после экспериментального ИИ TNF α в основном продуцируется микроглией и другими клетками нервной ткани головного мозга, а в более поздние сроки поддерживается макрофагами [591]. Увеличение экспрессии FasL после экспериментальной фокальной церебральной ишемии впервые было показано Martin-Villalba и соавт (1999) [415]. В более поздних работах также отмечали усиление экспрессии Fas и его лиганда в мозге после экспериментального ИИ, при этом нейтрализация FasL антителом была связана с нейропротективным эффектом [173]. Однако Liu L. и соавт. (2008) отметили альтернативную тенденцию, в их исследовании через 24 часа после моделируемого ИИ экспрессия FasL уменьшалась, на фоне увеличения экспрессии рецептора Fas в нейронах, астроцитах и незначительно в микроглии [389].

Системный ответ на локальное ишемическое повреждение ткани головного мозга – еще одна причина повышения концентрации в периферической крови растворимых регулирующих апоптоз факторов. Н. Offner и соавт (2006) в эксперименте показали значительное повышение секреции TNF α и других цитокинов, в том числе ИЛ-6, активированными клетками селезенки, Т-лимфоцитами периферической крови и лимфатических узлов и пришли к заключению, что очаговая церебральная ишемия приводит к динамической и широко распространенной активации воспалительных цитокинов, хемокинов и их рецепторов в периферической иммунной системе [456].

С течением времени локальный и системный воспалительный ответы теряют свою интенсивность [658]. Но по результатам нашей работы к завершению острого периода ИИ снижение концентрации факторов, обладающих провоспалительной активностью, в периферической крови

пациентов с течением времени до уровня контрольных значений не происходило. При этом для показателей концентрации sFas и sFasL отмечалось ее прогрессивное увеличение во все сроки исследования. Такие разные закономерности можно объяснить результатами немногочисленных работ последних лет, которые демонстрируют противовоспалительные и антиапоптотические эффекты sFasL. Однако, необходимо отметить, что все эти работы были сделаны в области офтальмологии и при том одной и той же исследовательской группой [409]. При том известно, что один из путей получения растворимых форм лиганда и рецептора Fas – это отсечение надмембранной их части металлопротеиназами, активность которых возрастает при воспалении [450]. Также в условиях гипоксии и воспаления возрастает экспрессия мембранных форм [156, 286]. Поэтому в целом, даже учитывая описанный исследовательской группой противовоспалительный и антиапоптотический эффект, концентрация растворимой формы лиганда отражает объем и тяжесть поражения, пропорциональное выраженности воспаления и апоптоза.

Концентрация TNF α достоверно снижалась к 7-м суткам исследования, не достигая при этом контрольных значений, но затем прослеживалась тенденция к ее росту. Уровень ИЛ-6 нарастал к 7-м суткам, а затем к 21-м снижался, оставаясь при этом достоверно выше значения группы контроля.

Возможно, такое длительное повышение концентрации рассматриваемых факторов связано с тем, что в перинфарктной зоне даже через несколько недель после экспериментального ИИ сохраняется активность микроглии, которая считается основным источником провоспалительных цитокинов, включая TNF α и IL-1 в перинфарктном и инфарктном очаге [366].

Еще одной причиной повышения концентраций регулирующих апоптоз и воспаление факторов в периферической крови у пациентов после ИИ является специфический аутоагрессивный иммунный ответ. С момента нарушения проницаемости ГЭБ при развитии ИИ очаг ишемического

повреждения в головном мозге становится источником молекул, которые могут инициировать специфический иммунный ответ, сопровождающийся увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в крови [125]. Постинсультный период характеризуется персистированием в периферической крови забарьерных мозгоспецифических антигенов и состоянием предрасположенности к иммунной аутоагрессии [161, 162, 460]. Вероятно, поэтому происходит пролонгация воспалительного ответа и уровни провоспалительных и апоптозиндуцирующих агентов остаются повышенными.

Повышение уровня $\text{TNF}\alpha$ оказывает выраженную стимулирующую активность в отношении металлопротеиназ в тканях и в периферической крови [56]. С помощью этой группы ферментов происходит реализация такого процесса как шеддинг - протеолитическое отщепление внеклеточного фрагмента мембранных белков. Он является одним из регуляторных механизмов, способных уменьшать количество лигандов и рецепторов на клеточной поверхности и тем самым влиять на восприимчивость клетки к внешнему сигналу. Отщепление надмембранной части FasL может быть опосредовано матриксной металлопротеиназой-9 (MMP-9, желатиназа-B). Синтезированная *de novo* MMP-9 (pro-MMP-9) активируется двустадийным аутопротеолизом. Наиболее эффективной металлопротеиназой для отщепления $\text{TNF}\alpha$ и TNFR-1 , а также рецептора ИЛ-6 является фермент, превращающий фактор некроза опухоли (TACE / ADAM17). При развитии ИИ активность металлопротеиназ в мозге и в периферическом кровотоке увеличивается [73]. Это еще один источник увеличения в периферической крови концентрации растворимых лигандов и рецепторов.

$\text{TNF}\alpha$ задействован в разрушении ГЭБ. Секретируемый микроглией типа M1 $\text{TNF}\alpha$ приводит к некроптозу эндотелиоцитов, опосредованному активацией TNF-R1 [194]. Разрушение ГЭБ ведет к дальнейшему прогрессу заболевания, увеличению объема поврежденной ткани, увеличению его

проницаемости для забарьерных антигенов и растворимых факторов, в том числе, исследуемых в настоящей работе [629].

Рядом авторов показано, что растворимые регулирующие апоптоз лиганды могут взаимодействовать как с растворимыми, так и с трансмембранными рецепторами. Первые их связывают, что приводит к уменьшению вероятности взаимодействия со вторыми [627].

Таким образом, можно выделить механизм регуляции интенсивности атаки вышеуказанными лигандами трансмембранных рецепторов на поверхности клеток. В нашей работе введены информативные параметры, которые позволили проследить влияние лиганд-рецепторных соотношений на течение и исход острого периода ИИ. Эти показатели: отношение концентраций растворимых лиганда и рецептора в периферической крови для систем TNF α и Fas, sFasL-эффективность для системы Fas. Последний из указанных рассчитывается как отношение концентрации sFasL к произведению концентрации sFas и абсолютного содержания CD3CD95+ лимфоцитов. Он учитывает возможность связывания sFasL трансмембранными рецепторами на поверхности CD3CD95+ лимфоцитов в периферической крови.

Показатель sFasL- эффективности периферической крови после ИИ был достоверно ниже во все сроки исследования, чем в группе контроля, при этом концентрация sFasL и соотношение концентраций sFasL и sFas были достоверно выше контрольных значений также во все сроки исследования. Видимо, после развития ИИ, несмотря на достоверное повышение концентрации sFasL, эффективность взаимодействия этих лигандов со своими трансмембранными рецепторами может быть снижена.

Была сформулирована рабочая гипотеза о том, что популяция CD3CD95+ лимфоцитов может быть буфером для растворимого sFasL и, соответственно, влиять на эффективность его взаимодействия со своими рецепторами на поверхности клеток. «Емкость» этого буфера связана и отражает интенсивность специфического иммунного ответа на антигенную

стимуляцию забарьерными нейронспецифическими молекулами, которые оказываются в периферической крови при увеличении проницаемости ГЭБ. Приобретенный клеточный иммунный ответ на присутствие антигена - многоэтапный процесс [326, 526, 579] (Рисунок 8.1).

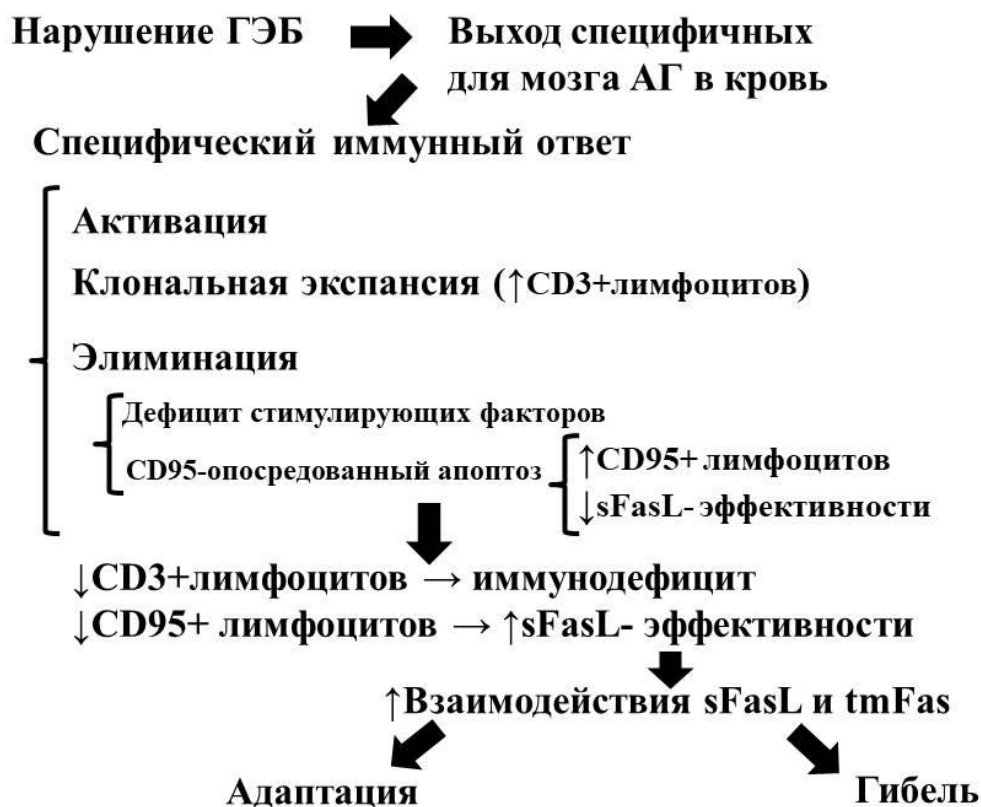


Рисунок 8.1 Схематичное изображение связи показателя sFasL-эффективности со специфическим иммунным ответом после ИИ

Сначала Т-клетки активируются при столкновении с антигеном, представленным в виде главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) вместе с костимулирующими сигналами на антиген-презентирующих клетках. Активированные Т-клетки дифференцируются в эффекторные клетки (т.е. они теряют свои сигналы возвращения в лимфатические узлы и начинают экспрессировать различные цитокины и другие эффекторные молекулы) и подвергаются обширной клональной экспансии – их количество многократно возрастает [323]. После пика ответа большинство антигенспецифических Т-клеток элиминируется,

что обеспечивает поддержание гомеостаза Т-клеточной популяции. Гибель периферических Т-клеток в основном вызывается двумя механизмами: “death by neglect”, или автономной клеточной смерти, которая связана с возникающей недостаточностью костимулирующих и цитокиновых сигналов (это происходит в основном на ранних этапах активации, до момента индуцированной экспрессии Fas-рецептора) [627]. Далее преобладают механизмы активационно-индуцированной гибели клеток (англ. Activation-induced cell death, AICD), реализующиеся через активацию апоптоза по внешнему в основном Fas-зависимому пути, который обеспечивает понижающую регуляцию иммунного ответа. Относительная значимость двух форм гибели Т-клеток не установлена. Некоторое количество антиген-специфических Т-клеток остается, образуя пул Т-клеток памяти [26, 549].

Необходимо отметить, что экспрессия Fas-рецептора не является достоверным показателем реализации апоптоза, поэтому используют различные показатели вероятности апоптоза лимфоцитов. Например, показатель интенсивности (реализации) апоптоза (ИРА) как отношение содержания апоптотирующих клеток к общему числу CD95 экспрессирующих клеток. Однако в настоящем исследовании не было цели установить, какая часть CD95 позитивных лимфоцитов реализует процессы апоптоза – они рассматривались лишь как потенциальный буфер для sFasL [26]. Исходя из вышесказанного, показатель sFasL-эффективность характеризует также потенциальную возможность влияния системы Fas на выраженность процесса иммуносупрессии.

sFasL-эффективность периферической крови также может косвенно отражать потенциальную «емкость» связывания sFasL рецепторами CD3CD95 позитивных лимфоцитов в нервной ткани головного мозга. В ряде исследований показана повышенная способность CD3 позитивных лимфоцитов проникать через ГЭБ из кровотока в нервную ткань в зоне нейровоспаления при ИИ. Следует отметить, что эндотелиальные клетки мозга человека устойчивы к клеточной гибели, опосредованной TNF α , FasL и

TRAIL [621]. На интенсивность диапедеза Т-клеток оказывает влияние целый ряд факторов. Так, на модели ГЭБ *in vitro* показана CCL5-управляемая миграция CD3 позитивных Т-клеток во время нейровоспаления [629]. В экспериментах по моделированию нейровоспаления у животных показано влияние уровня экспрессии молекул ICAM-1 на поверхности входящих в ГЭБ эндотелиоцитов [131], а также характеристик астроглии [563]. Провоспалительные цитокины, например интерлейкин-1, концентрация которого повышается при развитии нейровоспаления, в том числе связанного с ИИ, способствуют увеличению экспрессии молекул адгезии ICAM-1 и ряда других провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и TNF α , что приводит к уменьшению трансэндотелиального электрического сопротивления, увеличению парацеллюлярной проницаемости и диапедезу лимфоцитов через клеточный слой в *in vitro* модели ГЭБ. На проницаемость ГЭБ при ИИ оказывают значимое влияние металлопротеиназы [629]. При развитии ИИ активность металлопротеиназ в мозге и в периферическом кровотоке увеличивается. Увеличение активности MMP9 связывают с повышением проницаемости ГЭБ в моделях ИИ и травмы, хорошо охарактеризована ее роль в транс-миграции иммунных клеток в мозг. MMP также могут играть роль в созревании хемокинов и деградации белков плотных межклеточных контактов. Первое способствует усилению миграции лейкоцитов в ЦНС, второе - повышению проницаемости для растворимых молекул крови (комплемент, антитела, эндотоксины) [73].

Показано, что индуцированный иммунный ответ может способствовать аутофагии нейронов и регенерации нервной ткани головного мозга. Но на ранней стадии острой ишемии аутоагрессивный иммунный ответ приводит в основном к гибели нервных клеток [274]. Цитотоксический эффект реализуется при выделении перфорины вместе с различными гранзимами, что приводит к быстрому некрозу клетки-мишени в короткие сроки (минуты). Второй механизм – это реализация апоптоза клеток-мишеней после

активации рецепторов гибели клеток, в том числе Fas- рецептора. Второй процесс более медленный [347, 477, 613].

Таким образом, популяция CD3CD95 позитивных лимфоцитов потенциально может связывать sFasL в нервной ткани головного мозга, а показатель sFasL- эффективности периферической крови отражать емкость этого связывания.

Для клинической интерпретации результатов работы и возможности использования их в клинической практике необходимо было провести разделение пациентов с ИИ на подгруппы с учетом неврологического дефекта, полноты функционального восстановления и параметров, учитывающих особенности патогенетических и саногенетических процессов, связанных с механизмами реализации апоптоза. Для этого требовалось выявить и обосновать соответствующие параметры. Балл по шкале NIHSS при исследуемой в работе локализации ИИ (бассейны ЛСМА и ПСМА) коррелировал со значениями основных шкал функциональной активности, которые используются в клинической практике неврологов для оценки исхода и построения стратегии реабилитационных мероприятий. Поэтому для условного распределения пациентов, перенесших ИИ, на группы с учетом функционального восстановления и апоптозиндуцирующих характеристик периферической крови был проведен ретроспективный анализ зависимости тяжести исхода (балл по NIHSS на 21-е сутки) от концентраций sFasL, sFas и их соотношения на 1-е сутки. По его результатам отмечалось разделение пациентов на 2-е группы по значениям соотношений концентраций sFasL и sFas. При этом граничным значением NIHSS на 21-е сутки для этого разделения была выраженность неврологического дефицита равная 5 баллам. Для показателей системы $\text{TNF}\alpha$ наблюдалась аналогичная ситуация. Учитывая, что функциональные ограничения пациента при таком уровне неврологического дефицита (≤ 5 баллов по NIHSS) слабо выражены или полностью отсутствуют, то на основании вышеприведенных результатов было принято решение о выделении в группе исследования двух подгрупп

пациентов: с благоприятным исходом ИИ (NIHSS на 21 сутки ≤ 5) и с неблагоприятным исходом (NIHSS на 21 сутки > 5) острого периода ИИ.

В группе пациентов с благоприятным исходом концентрация sFasL была достоверно ниже, чем в группе с неблагоприятным ($p < 0,01$). Соотношение концентраций растворимых лиганда и рецептора системы Fas также имело достоверные различия в зависимости от подгруппы исследования. В подгруппе пациентов с благоприятным исходом его значение было сопоставимо со значениями в группе контроля, причем на 7-е сутки оно было достоверно ниже. При неблагоприятном исходе этот показатель был повышен во все сроки исследования. Также имелись отличия в динамике. При неблагоприятном исходе достоверных изменений показателя с течением времени не было, а при благоприятном исходе отмечался достоверный парадоксальный рост показателя за 2-е последние недели острого периода ИИ.

Показатель sFasL-эффективности периферической крови был также достоверно повышен в подгруппе неблагоприятного исхода по сравнению с благоприятным, но при этом в обоих случаях они были ниже контрольных значений.

Вероятно, при развитии ИИ эффективность взаимодействия с растворимыми FasL снижается, несмотря на достоверное пропорциональное тяжести поражения повышение их концентрации. К 7-м и 21-м суткам в обеих подгруппах прослеживалась достоверная динамика показателя, схожая с динамикой соотношения концентраций sFasL и sFas. В группе неблагоприятного исхода наблюдалось повышение sFasL-эффективности к 7-м суткам, на фоне максимально низкого ее значения у пациентов с благоприятным исходом. К 21-м суткам наблюдалась парадоксальная картина достоверного роста показателя в группе пациентов с благоприятным исходом на фоне его снижения в подгруппе неблагоприятного исхода.

Возможным объяснением этого впервые выявленного феномена может быть следующее. Учитывая плейотропный эффект апоптозиндуцирующих

факторов, на 1-е и 7-е сутки исследования эффект регулирующих апоптоз лигандов проявляется независимо от исхода острого периода ИИ. К 21-м суткам у пациентов с благоприятным исходом, вероятно, происходит смещение направленности в сторону инициации адаптивных процессов.

Учитывая вышенаписанное, задача выявления возможных факторов влияния на смещение иницируемых регулируемыми апоптоз агентами процессов при ИИ, является одной из ключевых для успешного восстановления пациентов после ИИ (Рисунок 8.2).



Рисунок 8.2 Схема демонстрирует возможные результаты взаимодействия рецептора и лиганда системы Fas и наличие факторов микроокружения нейрона, которые оказывают влияние на выбор конкретного результата. Разрушение нейронных сетей при развитии ИИ приводит к формированию неврологических проявлений (утрате функции), формирование новых нейронных сетей – к восстановлению или замещению утраченной функции

Таким образом, результаты настоящей работы значительно расширяют представления о закономерностях изменения лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в периферической крови в остром периоде ишемического инсульта.

В работе впервые на адекватной однородной выборке пациентов показано закономерное увеличение концентрации растворимых лиганда и рецептора Fas в первые сутки ИИ с последующим прогрессивным нарастанием в течение всего острого периода, а также увеличение

концентрация $\text{TNF}\alpha$ во все сроки исследования по сравнению с контрольными показателями.

Нами введен параметр sFasL-эффективности, позволяющий проследить влияние величины пула CD3CD95 позитивных лимфоцитов и концентрации растворимого лиганда к рецептору CD95 (sFasL) в периферической крови на клиническое течение и закономерности механизма развития острого периода ИИ.

При анализе закономерностей динамики концентрации регулирующих апоптоз факторов систем Fas и $\text{TNF}\alpha$ выявлен информативный уровень неврологического дефицита по общепринятой клинической шкале NIHSS в исходе острого периода ИИ, по которому можно дифференцировать две подгруппы пациентов, для которых характерны различные закономерности динамики концентрации растворимых апоптозиндуцирующих молекул систем Fas и $\text{TNF}\alpha$. Так, в работе впервые выявлено, что повышение одних и тех же показателей на 1-е сутки ассоциировано с неблагоприятным, а на 21-е сутки - с благоприятным исходом острого периода ИИ. Так соотношение концентраций растворимых лигандов и рецепторов систем Fas и $\text{TNF}\alpha$, а также показатель sFasL-эффективности достоверно увеличиваются к исходу острого периода ИИ в подгруппе пациентов с благоприятным исходом, тогда как на 1-е сутки высокие значения этого параметра соответствуют плохому прогнозу.

Это свидетельствует о различных пато- и саногенетических эффектах указанных выше факторов у пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением острого периода ИИ, а также в одной и той же подгруппе на разных сроках от начала заболевания. Выявление причин и механизмов регуляции, определяющих эффект одного и того же фактора у разных пациентов – важная фундаментальная и клиническая задача [85].

8.2 Роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в патогенезе и формировании клинических проявлений ишемического инсульта

По результатам настоящего диссертационного исследования концентрация регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNF α в периферической крови пациентов после ИИ статистически достоверно коррелировала с выраженностью неврологического дефицита. Чем выше была в крови концентрация регулирующих апоптоз факторов, тем более выраженным был неврологический дефект у пациента. Полученные данные не противоречат и подтверждают результаты работ других исследовательских групп о том, что концентрация регулирующих апоптоз факторов в периферической крови коррелирует с объемом очага при локальном ишемическом поражении головного мозга [335, 366].

Наиболее сильные связи концентрации TNF α и соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1 с выраженностью неврологического дефекта в баллах шкалы NIHSS были в 1-е сутки исследования, т.е. в острейшем периоде ИИ.

Как показано в этой работе и работах других авторов наиболее выраженное увеличение TNF α в сыворотке пациентов, перенесших инсульт, происходит в первые сутки после появления симптомов [489].

Ухудшение клинического исхода и увеличение размера инфаркта в экспериментальных моделях на ранних сроках развития ИИ связывают в первую очередь со способностью TNF α потенцировать процесс развития воспаления.

TNF α обладает выраженным провоспалительным эффектом [334]. Механизмы воспаления играют решающую роль в патофизиологических процессах особенно в первые часы ИИ [232]. После ишемии головного мозга гибель нейронов запускает местные воспалительные и иммуногенные реакции. Это приводит к активации микроглии и миграции

иммуннокомпетентных клеток из периферической крови в область поражения [591].

Активированная микроглия действует синергически с клетками иммунной системы, инфильтрирующими ткань мозга, которые высвобождают большое количество провоспалительных медиаторов, в том числе ИЛ-6 и TNF α . Это дополнительное воздействие приводит к потенцированию гибели нейронов, нарушению гематоэнцефалического барьера, развития отека мозга и усугублению его ишемической альтерации. Инициирование эффектов критических внутриклеточных регуляторов после ишемии происходит посредством быстрой передачи сигналов, выдвигая на первый план цитокины как ключевые регуляторы повреждения при развитии инсульта [232].

И, вероятно, положительные корреляции концентрации TNF α в первые сутки после ИИ с выраженностью неврологического дефицита на том же сроке следует связывать в первую очередь с интенсивностью воспалительного ответа, а не только с регуляцией связанных с реализацией апоптоза процессов.

Однако апоптоз все же имеет существенную значимость в острейшем периоде ИИ. Об этом свидетельствуют данные о повышении в периферической крови пациентов с ИИ каспазы 3. Повышение происходит уже в первые сутки развития ИИ, и длительный период после ИИ ее концентрация остается повышенной. Причем величина этого повышения пропорциональна объему очага и степени неврологического дефицита [289].

Несмотря на то, что FasL принято рассматривать в первую очередь как медиатор апоптоза, существуют данные, свидетельствующие о том, что он может оказывать провоспалительное, в том числе и хемотаксическое действие [169]. В экспериментах при моделировании ИИ мыши с мутантным FasL (линия gld) или при ингибировании активности FasL нейтрализующими антителами имеют менее выраженное повреждение и меньшую инфильтрацию очага воспалительными клетками. Также у мышей линии gld

после ишемии выявлено ослабление рекрутирования нейтрофилов и активации микроглии, что связывают со сниженной у них экспрессией sFasL по сравнению с немутантными линиями мышей [451].

Показано, что микроглия, действуя подобно сенсору, обладает высокой пластичностью, может изменять свой фенотип и функции в ответ на различные стимулы окружающей среды. Активированная микроглия может приобретать провоспалительный (или M1) или противовоспалительный (или M2) фенотипы. Клетки микроглии M1 продуцируют высокие уровни провоспалительных цитокинов, в том числе TNF α , которые способствуют процессам защиты от проникновения патогенных микроорганизмов и поврежденных тканевых продуктов, но в то же время приводят к повреждению ткани [165]. И наоборот, микроглия M2, секретирующая противовоспалительные цитокины, такие как трансформирующий фактор роста- β (TGF β) и нейротрофины, играет решающую роль в ускорении заживления ран и подавлении деструктивных иммунных реакций. Эти противоположно направленные по своему эффекту активируемые фенотипы микроглии были обнаружены при ИИ и определяют регуляцию воспалительных реакций после инфаркта головного мозга [310].

Установлено, что воспалительные цитокины оказывают влияние на полноту реализации синаптической пластичности. Провоспалительные цитокины играют ключевую роль в регулировании синаптической пластичности при большом депрессивном расстройстве. Так же они могут запускать изменения и дегенерацию синапсов при аутоиммунном энцефаломиелите. Повышенная экспрессия воспалительных цитокинов в острейшем периоде экспериментально индуцированного ишемического повреждения у животных может способствовать увеличению потерь дендритных шипиков. Деструкция шипикового аппарата связана с активацией микроглии, которая может устранять дендритные шипики посредством фагоцитоза [329]. Однако, образование дендритных шипиков, обеспечивающее обучение, также регулируется микроглией, но уже

посредством активации сигнальных путей, связанных с мозговым нейротрофическим фактором [469]. Активированная микроглия может вносить вклад в формирование и устранение синапсов во время ишемии / реперфузии, используя разнообразный набор белков врожденной иммунной системы и путей комплемента [329].

Все больше исследований показывают, что поврежденные нейроны после инсульта не просто фагоцитируются клетками микроглии, но и регулируют ее фенотип и функции с помощью цитокинов, нуклеотидов и хемокинов. При воздействии ишемии нейроны высвобождают sFasL, что приводит к поляризации M1-микроглии через активацию в ее клетках сигнальных путей JAK2 / STAT3 и NF- κ B [423].

В FasL-опосредованной поляризации микроглии M1 важную роль играет ее взаимодействие с CD3CD4CD95⁺ Т-клетками. CD4⁺ Т-клетки внедряются в ишемизированную ткань мозга в течение 24 часов и достигают максимального количества на 3-и сутки после очагового инфаркта [274]. Как правило, CD4⁺ Т-клетки можно разделить на Th1, Th2, Th17 и регуляторные Т (Treg) клетки на основании их профилей секреции цитокинов. Исследования разных лет показывают, что различные подгруппы CD4⁺ Т-клеток могут оказывать различное влияние на поврежденный мозг [324]. Клетки Th1 и Th17 продуцируют такие специфические цитокины, как IL-1, IFN γ , IL-17, IL-22 и др. Они характеризуются высокой провоспалительной способностью и усугубляют повреждение головного мозга. Клетки Th2 и Treg напротив, могут подавлять чрезмерно выраженное воспаление, так как они продуцируют такие противовоспалительные цитокины, как IL-4, IL-10 и TGF β . Баланс между Th1/Th17 и Th2/Treg-клетками преимущественно влияет на функцию CD4⁺ Т-клеток и определяет исход воспалительного процесса в мозге. CD4⁺ Т-клетки могут взаимодействовать с микроглией после повреждения головного мозга, молекулярные механизмы их взаимодействия все еще обсуждаются. Однако известно, что CD4⁺ Т-клетки могут индуцировать поляризацию микроглии M1 посредством активации

сигнального пути NF-κB. При наличии мутации по гену FasL отмечается уменьшение инвазии Т-клеток после инсульта и снижение активации микроглии. Кроме того, наличие мутации FasL смещает баланс клеток Th17 / Treg в сторону Treg [287].

В целом, уменьшение эффектов FasL различными путями значительно ослабляет в эксперименте воспалительный процесс после ИИ [647].

sFasL играет значимую роль в развитии воспаления и эндотелиальной дисфункции не только при ишемическом инсульте, но также при ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, сахарном диабете, ишемической болезни сердца и хронических заболеваниях почек. Экспериментальное исследование на мышах *gld* показало, что повышение sFasL способствует онкогенезу и запускает аутоиммунные реакции. Многие исследователи предполагают, что sFasL может стать еще одним маркером воспаления и дисфункции эндотелия при аутоиммунных заболеваниях [49, 445].

Показано, что лейкоцитоз является маркером воспалительного ответа после инсульта [274]. Лейкоциты потенцируют ишемическое повреждение. Они прилипают к эндотелию, препятствуя нормальному протеканию процессов обмена в микроциркуляторном русле. Активированные лейкоциты на поверхности эндотелия продуцируют протеазы, металлопротеиназы, свободные радикалы, избыток которых приводит к повреждению кровеносных сосудов и ткани мозга. Такие биологически активные вещества, как эйкозаноиды, лейкотриены, простагландины, фактор, активирующий тромбоциты, образуются при активации лейкоцитов фосфолипазами и приводят к сужению сосудов и агрегации тромбоцитов. Инфильтрирующие ткань головного мозга лейкоциты, активируя провоспалительные факторы, дополнительно усиливают повреждение нейронов как в ядре инфаркта, так и в области ишемической полутени [341]. Furlan et al. продемонстрировали, что лейкоцитоз в значительной степени связан с высокой степенью инвалидности и более высокой смертностью [268].

В нашем исследовании уровень лейкоцитов также достоверно коррелировал с выраженностью неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS в острейшем периоде (на 1-е сутки исследования), а также ретроспективно - на 21-е сутки. При количестве лейкоцитов выше $11 \cdot 10^9/\text{л}$ летальность составляла 50%. Концентрация ИЛ-6 также была ассоциирована с выраженностью неврологического дефицита.

При этом в острейшем периоде уровень лейкоцитов и концентрация ИЛ-6 (маркера интенсивности воспалительной реакции) достоверно коррелировали с концентрациями эффекторов регулирующих апоптоз систем ($\text{TNF}\alpha$, sFasL, соотношениями концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1, sFasL и sFas).

Схожие корреляции были обнаружены при исследовании содержания растворимых Fas, интерлейкина- 1β и ИЛ-6. в спинномозговой жидкости пациентов с болезнью Альцгеймера. Авторы сделали вывод об участии sFasL в воспалительной реакции, наблюдаемой в ткани мозга при этой болезни. Клиническая и патофизиологическая связь болезни Альцгеймера с цереброваскулярной патологией и перенесенным ИИ показана в ряде исследований [220]. Выводы ряда экспериментальных работ также соответствуют полученным в диссертационном исследовании результатам. Так, экспрессия Fas и FasL в культуре астроцитов человека усиливалась при введении в среду ИЛ-1, ИЛ-6 или $\text{TNF}\alpha$. Введение в культуру астроцитов этих цитокинов индуцировало апоптоз. Мыши с дефицитом ИЛ-6 продуцировали меньше $\text{TNF}\alpha$ в ответ на воздействие эндотоксина [232, 591].

Считается, что реализуемый нейронами головного мозга вариант клеточной гибели при церебральной ишемии зависит от достаточности их энергообеспечения [454]. При ИИ формируется градиент дефицита кровотока и соответственно уровня кислородного и субстратного обеспечения нервной ткани. Поэтому формируется так называемый некрозапoptозный континуум [372]. Это объясняет одновременное увеличение в периферической крови маркеров воспаления и апоптоза, полученное в нашем исследовании.

Видимо, некорректно говорить о том, какой из рассматриваемых процессов имеет большую значимость в развитии острейшего периода ИИ в целом, но только в конкретном участке ткани и в определенный момент времени. В участках ткани с низким энергетическим обеспечением будут преобладать воспалительные явления, с достаточным – апоптотической гибели клеток (Рисунок 8.3).



Рисунок 8.3 Схематическое изображение влияния уровня энерго- и субстратообеспечения на реализуемый нейроном вариант клеточной гибели независимо от способа ее индукции

Исходя из данных литературы, такие изменения и зависимости не являются специфичными для ИИ. Повышение концентраций $\text{TNF}\alpha$, sFasL, каспазы 3 и других растворимых регулирующих апоптоз и воспаление факторов в периферической крови отмечено при геморрагическом инсульте, в том числе и при субарахноидальном кровоизлиянии, а также при травматическом повреждении головного мозга [276]. При повреждении ткани головного мозга разного происхождения (ишемия, кровоизлияние, травматическое повреждение) регулирующие апоптоз факторы имеют прогностическое значение равно как и при ИИ [396, 607].

Из вышеприведенных фактов следует, что закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов в острейшем периоде ИИ связаны преимущественно с уровнем обеспечения энергией и субстратами. Это значит, что решающую роль играет локализация нейрона относительно очага ишемии, что подтвердили результаты патоморфологической части нашего исследования.

В острейшем периоде ИИ разделение исследованных в диссертационной работе биологически активных веществ на провоспалительные и апоптозиндуцирующие агенты крайне условно и лишь отражает их принадлежность к той или иной искусственно выделенной систематической группе. Определяющим их действие является окружающая микросреда. Действующий фактор в условиях острейшего периода ИИ нельзя рассматривать вне контекста реальных условий микроокружения нейрона. Однако, важно и то, что сам рассматриваемый фактор лишь искусственно выделен наблюдателем, являясь при этом равноправной частью окружающей микросреды. Микросреда в целом, но не отдельно рассматриваемый фактор, в острейшем периоде ИИ определяет тот конечный эффект, который будет реализован в результате воздействия регулирующего апоптоз фактора на нейрон (Рисунок 8.4).



Рисунок 8.4 Схема результирующего воздействия совокупности факторов на объект исследования (нейрон). Серым выделена область задач исследования влияния отдельного фактора вне контекста суммарных условий среды

Таким образом, эффект действия биологического фактора на систему (на примере регулирующих апоптоз факторов) не может быть определен вне контекста суммарных условий среды. Потенциально способное индуцировать апоптоз взаимодействие лиганда и рецептора не является ключевым событием для определения судьбы клетки. Это взаимодействие создает прецедент для начала конкуренции многоуровневых внутриклеточных каскадов за энергию и вторичные мессенджеры. Определяющим является совокупность всех факторов микроокружения в текущий момент времени. Такую совокупность параметров среды, способную приводить к изменению закономерностей функционирования рассматриваемой системы мы предлагаем назвать «запросом на адаптацию».

Запрос на адаптацию - новое гипотетическое понятие для обсуждения влияния среды с учетом временного аспекта на объект приложения – нейрон, нейронную сеть, целостный организм, социум и прочие. Это понятие подразумевает наличие наблюдателя, способа наблюдения и регистрации его результатов, которые должны соответствовать выбранному уровню рассмотрения изучаемой системы. Запрос на адаптацию приводит к формированию под его влиянием конкурентных отношений внутри рассматриваемой системы и влечет за собой изменение параметров ее функционирования, что отражается появлением нового признака/функции с течением времени.

Клиническая значимость изучения апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в патогенезе острейшего периода ИИ заключается в возможности прогнозирования течения и исходов его острого периода, а также использование их как мишени или показателя эффективности терапевтического воздействия.

В клинической практике для построения индивидуальной тактики лечения и реабилитации важна возможность прогноза состояния пациента на момент завершения острого периода ИИ при поступлении пациента в стационар. Так, при проведении ретроспективной оценки в настоящей работе

(т.е. при выполнении корреляционного анализа между показателями апоптозассоциированных систем TNF α и Fas в периферической крови при поступлении пациента с ИИ в стационар и уровнем неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода ИИ, т.е. на 21-е сутки) были выявлены прогностически значимые показатели: концентрация sFasL, соотношение концентраций sFasL/sFas, абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов, TNF α , соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1. Это значит, что выраженность неврологического дефицита у перенесших ИИ пациентов в исходе острого периода может быть ориентировочно спрогнозирована при помощи определения вышеперечисленных показателей при их поступлении в стационар.

При этом прогностическим преимуществом обладает величина соотношения концентраций sFasL/sFas. Это было показано путем проведения кластерного анализа, а также сравнения р-уровней отличий между подгруппами с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ с разным граничным уровнем неврологического дефицита распределения для исследуемых параметров.

Сходную ретроспективную оценку проводили и для степени функциональных нарушений на 21-е сутки, выраженных в баллах по шкалам Бартел и Рэнкина. Выявили, что для прогноза функционального состояния в исходе острого периода ИИ, выраженного в баллах шкалы Рэнкина и индекса Бартел могут быть использованы те же показатели, что и для прогноза неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS. Прогностическим преимуществом также обладала величина соотношения концентраций sFasL/sFas. Это объясняется тем, что уровень повседневной активности, независимости, инвалидизации пациентов и нуждаемости во внешней помощи при проведении медицинской реабилитации после ИИ зависит от выраженности неврологического дефицита, оцениваемого в настоящей работе в баллах по шкале NIHSS.

Учитывая наличие достоверных корреляционных связей между рядом изучаемых параметров систем Fas и TNF α , а также схожую роль в патогенезе острейшего периода ИИ, возможна их взаимозаменяемость и перекрестное прогнозирование.

Исходя из тезиса о том, что закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов в острейшем периоде ИИ связаны преимущественно с уровнем их обеспечения энергией и субстратами, ведущей мишенью терапевтического воздействия следует считать энергетический и субстратный дефицит. Его устранение – одно из условий полноценной реализации адаптивных механизмов.

В первые часы острейшего периода терапевтическая или спонтанная реперфузия – растворение или устранение тромба, вызвавшего окклюзию мозговой артерии – это наиболее эффективные способы достижения адекватного энергетического и субстратного обеспечения [15]. В результате такого вмешательства возможно полное восстановление временно утраченных в результате развития ишемии функций пациента. Для достижения благоприятного функционального прогноза при выполнении любого вида реперфузии определяющим является временной фактор. Неполное восстановление функции формирует необходимость создания клинических условий для дальнейшей реабилитации. Также существует целый ряд противопоказаний для применения вышеуказанных медицинских воздействий, что значительно ограничивает количество пациентов, которые могут получить эту помощь [78].

В случае невозможности проведения терапевтической или механической реперфузии восполнение энергетического и субстратного дефицита возможно лишь в зонах головного мозга с сохранным кровоснабжением. В таком случае нутриционная поддержка в острейшем периоде ИИ может рассматриваться как ведущий компонент не только интенсивной терапии, но и нейропротекции. Результаты ряда исследований подтверждают, что без рациональной и сбалансированной нутриционной

поддержки восстановление пациентов после ИИ проходит медленнее и с худшим исходом [58].

В остром периоде ИИ (7-е и 21-е сутки исследования) также выявлен ряд закономерностей, по которым можно составить представление о роли апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в патогенезе ИИ, а также их клинического значения.

К 7-м суткам по сравнению с 1-ми уменьшалась корреляция между концентрациями sFasL и TNF α и полностью отсутствовала к концу острого периода ИИ. Это может свидетельствовать о расхождении направлений биологических эффектов sFasL и TNF α , максимально выраженного в подгруппе неблагоприятного исхода достоверной обратной корреляционной связью. Концентрация TNF α переставала коррелировать с уровнем лейкоцитов, что можно рассматривать как причину или следствие изменения характеристик воспалительного ответа.

Число лейкоцитов в единице объема крови снижалось с течением времени, что указывает на снижение интенсивности воспалительного ответа. Причем в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом оно снижалось более интенсивно так, что к концу первой недели наблюдения достоверных отличий между подгруппами по данному параметру уже не отмечалось.

О качественных характеристиках ответа иммунной системы можно косвенно судить по количеству лимфоцитов в единице объема периферической крови [610].

Выявлены следующие закономерности. В подгруппе пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ абсолютное содержание лимфоцитов и CD3⁺ лимфоцитов на 7-е сутки наблюдения достоверно снижалось, а затем нарастало к 21-м. Для абсолютного содержания CD3CD95 позитивных лимфоцитов была характерна противоположная динамика. Из чего представляется возможным предположить, что уменьшение количества лимфоцитов в рамках временного периода 1-е – 7-е сутки исследования в этой подгруппе было связано с реализацией ими Fas-опосредованных

механизмов клеточной гибели. Описанная динамика соответствовала снижению содержания лейкоцитов в единице объема периферической крови, а также концентрации в ней TNF α , имеющего в острейшем периоде ИИ преимущественно провоспалительную активность. Возможно, уменьшение его концентрации служило одним из стимулов, которые в сумме приводили к угасанию специфического иммунного ответа против мозгоспецифических забарьерных антигенов и вызывали гибель иммунокомпетентных клеток по обоим рассмотренным выше механизмам.

Ряд работ на моделях у животных демонстрирует, что дегенерация ГЭБ после церебральной ишемии-реперфузии может иметь две фазы. Согласно этой парадигме, за увеличением проницаемости следует рефрактерный период, в течение которого проницаемость ГЭБ возвращается к исходному уровню, и отсроченное второе увеличение проницаемости. Более поздние исследования поставили под сомнение эту интерпретацию, показав неполное восстановление после первого увеличения проницаемости, однако не отрицали «двухфазного» нарушения проницаемости ГЭБ [424]. Считается, что к «второй волне» увеличения проницаемости ГЭБ приводит снижение экспрессии и деградация белков плотных межклеточных контактов вследствие активации матриксных металлопротеиназ и усиления окислительного стресса. После реперфузии дальнейшее повреждение ГЭБ связывают с активацией резидентных и притоком иммунных клеток в ткани мозга. Увеличение экспрессии молекул межклеточной адгезии, интегринов и E-селектина способствуют массовому проникновению в паренхиму головного мозга иммунных клеток из периферического кровотока, что приводит к обострению нейровоспаления [504]. Авторы всех публикаций констатируют факт, что к завершению острого периода ИИ дисфункция ГЭБ становится все менее выраженной, однако полного восстановления не происходит [629].

Уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6 у пациентов подгруппы благоприятного исхода к 7-м суткам нарастал. Это на первый взгляд

противоречило динамике содержания лимфоцитов и CD3CD95 позитивных лимфоцитов и сокращению их общего числа. Однако, результаты исследований динамики содержания этого цитокина в периферической крови пациентов после ИИ других исследовательских групп показывают, что пиковая концентрация ИЛ-6 приходится на середину первой недели после ИИ [112, 205]. Следовательно, в настоящем исследовании, к 7-м суткам имеет место не пиковая концентрация ИЛ-6, а значение уже после снижения, которое в совокупности со снижением содержания других провоспалительных цитокинов и приводит к торможению формирования специфического иммунного ответа.

Соотношения концентраций растворимых факторов регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α в периферической крови пациентов подгруппы благоприятного исхода острого периода ИИ к 7-м суткам имели ряд особенностей. Выявлено не только достоверное снижение концентрации TNF α , но также и значения соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1, что дополнительно снижало конкурентную активность TNF α за трансмембранные рецепторы. Для растворимых лигандов системы Fas напротив была характерна стабильность показателей. Это может свидетельствовать о расхождении направлений биологических эффектов sFasL и TNF α к 7-м суткам.

При проведении корреляционного анализа выявлено, что чем выше sFasL-эффективность и соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1 на 7-е сутки, тем ниже темп восстановления неврологического дефицита по шкале NIHSS. Это свидетельствует в пользу протективного значения снижения этих показателей в первую неделю после развития ИИ в подгруппе пациентов с благоприятным исходом его острого периода и о том, что оценивать эффективность этого снижения следует отсроченно – в исходе острого периода.

К 21-м суткам у пациентов подгруппы благоприятного исхода острого периода ИИ отмечалось увеличение абсолютного содержания лимфоцитов в

единице объема периферической крови. Таким образом, на 7-е сутки исследования у пациентов с благоприятным исходом отмечался «провал» в абсолютном содержании лимфоцитов, свидетельствующий о снижении интенсивности специфического иммунного ответа (Рисунок 8.5). В исходе острого периода ИИ уменьшалось количество CD3CD95 позитивных лимфоцитов, что свидетельствует о снижении вероятности гибели лимфоцитов путем реализации в них механизмов Fas-опосредованного апоптоза, а также уменьшения «емкости буфера», связывающего активный sFasL. При этом абсолютное число CD3CD95 позитивных лимфоцитов не коррелировало с выраженностью неврологического дефицита.

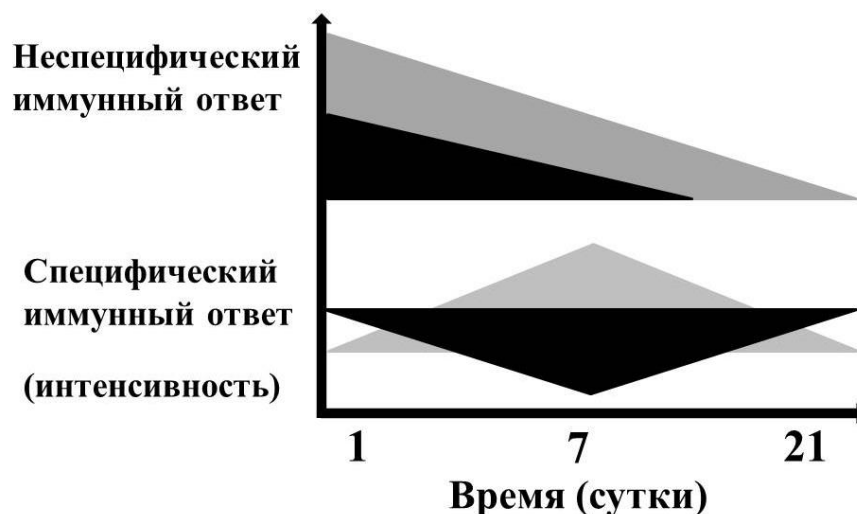


Рисунок 8.5 Закономерности динамики неспецифического и специфического иммунного ответа у пациентов из подгрупп благоприятного (черный) и неблагоприятного (серый) исхода острого периода ИИ.

К концу острого периода ИИ в рассматриваемой подгруппе нарастали значения параметров, отражающих содержание проапоптотических факторов: концентрация $\text{TNF}\alpha$, соотношение концентраций $\text{TNF}\alpha$ и sTNF-R1, концентрация sFasL, соотношение концентраций sFasL и sFas, и особенно выражено — показателя sFasL-эффективности. Это свидетельствует об увеличении вероятности взаимодействия регулирующих апоптоз факторов с

соответствующими трансмембранными рецепторами, расположенными в том числе и на поверхности нейронов. Однако, увеличение этого взаимодействия, вероятно, имеет значение для реализации адаптационных процессов, т.к. описанная закономерность характерна только для пациентов подгруппы благоприятного исхода острого периода ИИ.

В литературе имеются данные о том, что, равно как и sFasL, TNF α может не только способствовать повреждению нейронов, а также оказывать и защитное действие [291]. Например, TNF α может вызывать экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xl в нейронах гиппокампа. Показана защитная роль предварительного введения TNF α для клеток тканей головного мозга и сердца в моделях их ишемического повреждения. TNF α оказывает нейропротективный эффект посредством влияния на дифференцировку, пролиферацию и выживаемость нервных стволовых клеток и клеток-предшественников в головном мозге, что приводит к лучшей регенерации тканей и восстановлению неврологической функции после инсульта. Предварительная обработка TNF α культуры человеческих нейронов играет важную роль в предупреждении апоптоза, вызванного депривацией кислорода и глюкозы [342], а также улучшает выживаемость и функцию трансплантированных нервных клеток-предшественников человека после экспериментального ишемического воздействия. Ишемическое preconditionирование вызывает активацию нейронального TNF-R1, при этом экспериментально индуцированное снижение экспрессии TNF-R1 ингибирует защитный эффект preconditionирования, что позволяет предположить участие TNF-R1 и TNF α в обеспечении ишемической толерантности [343].

Таким образом, в остром периоде ИИ (во временном интервале исследования 7-21-е сутки) увеличение активности TNF α и sFasL в периферической крови пациентов подгруппы с благоприятным исходом острого периода ИИ соответствует эффективной реализации адаптационных процессов, и, возможно, является механизмом ее обеспечения.

В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ абсолютное содержание лимфоцитов и CD3 позитивных лимфоцитов на 7-е сутки наблюдения достоверно увеличивалось, а к 21-м суткам в исходе острого периода оно достоверно понижалось. Таким образом, на 7-е сутки исследования в периферической крови у пациентов этой подгруппы было отмечено пиковое значение вышеуказанных параметров, что указывает на «пик» реализации специфического иммунного ответа в рассматриваемом временном периоде, в отличие от «провала» в подгруппе благоприятного исхода (Рисунок 8.5). Это происходило на фоне достоверного и гораздо более мощного, чем в подгруппе благоприятного исхода, повышения концентрации ИЛ-6, который играет важную роль в приобретенном иммунном ответе за счет стимуляции выработки антител и эффекторных Т-клеток [564].

Различия по величине концентрации ИЛ-6 между подгруппами были достоверными. При этом выявлялись достоверные корреляционные связи между абсолютным содержанием лимфоцитов и CD3 позитивных лимфоцитов на 7 сутки и выраженностью неврологического дефицита как на том же сроке исследования, так и в исходе острого периода ИИ. Для абсолютного содержания CD3CD95 позитивных лимфоцитов была характерна динамика противоположная динамике содержания лимфоцитов. К 7-м суткам исследования минимальное абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов обуславливало низкий уровень их апоптоза. Также этому способствовало и повышение концентрации ИЛ-6, который может ингибировать развитие апоптоза Т-лимфоцитов [564].

Увеличение в периферической крови концентрации ИЛ-6 приводит к потенцированию эндотелиальной дисфункции, которая в свою очередь приводит к усугублению дисбаланса факторов гуморальной регуляции апоптоза и воспаления [175, 596]. Эндотелий также является важным компонентом ГЭБ. Дисфункция эндотелия приводит к нарушению сообщения между сосудистым руслом и нервной тканью головного мозга. При увеличении проницаемости возрастает стимуляция специфического

иммунного ответа, а при уменьшении – субстратный дефицит и гипоксия тканей головного мозга [325]. При благоприятном исходе острого периода ИИ в первую неделю происходит незначительное увеличение этого показателя, а при неблагоприятном - концентрация ИЛ-6 возрастает больше чем в два раза. Вероятно, это приводит к дополнительному нарушению ГЭБ в первую неделю, усилению специфического иммунного ответа и торможению репаративных процессов у таких пациентов.

Уменьшение количества лимфоцитов в рамках временного периода 7-е – 21-е сутки исследования в подгруппе неблагоприятного исхода представляется возможным связать с реализацией ими Fas-опосредованных механизмов клеточной гибели. Об этом свидетельствует противоположная динамика абсолютного содержания лимфоцитов и CD3CD95 позитивных лимфоцитов в периферической крови. К 21-м суткам происходило значимое снижение содержание ИЛ-6 в периферической крови пациентов, также снижалась концентрация и TNF α до уровня подгруппы благоприятного исхода. Также к концу острого периода проницаемость ГЭБ постепенно уменьшается [325], что приводит к уменьшению присутствия в периферической крови мозгоспецифических забарьерных антигенов. Это является одним из стимулов, которые в сумме способны вызывать гибель иммунокомпетентных клеток по механизму “death by neglect” и приводить к угасанию специфического иммунного ответа [651].

Таким образом, роль лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α в периферической крови пациентов в остром периоде ИИ в первую очередь заключается в контроле интенсивности специфического иммунного ответа, динамические характеристики которого тесно связаны с темпом и качеством восстановления неврологического дефекта после ИИ.

В остром периоде ИИ смещение баланса лиганд-рецепторных соотношений TNF α и sFasL в периферической крови пациентов подгруппы с благоприятным исходом острого периода ИИ в сторону увеличения

эффективности воздействия лиганда соответствует эффективной реализации адаптивных процессов, и, возможно, является механизмом ее обеспечения.

В целом, результаты анализа полученных фактических данных дают основание заключить, что в остром периоде ИИ закономерности регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α существенно влияют на его течение и исход.

Патофизиологическая роль апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α зависит от времени, прошедшего с момента начала сосудистой катастрофы. В острейшем периоде ИИ она заключается в первую очередь в регуляции интенсивности системного воспалительного ответа на ишемическое повреждение ткани головного мозга, которая связана с тяжестью неврологического дефицита и влияет на уровень восстановления пациентов в исходе острого периода ИИ.

От соотношений гуморальных эффекторов апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных систем в острейшем периоде ИИ зависит характер дальнейшего пролонгированного во времени специфического иммунного ответа на массивную стимуляцию забарьерными мозгоспецифическими антигенами.

Отражением этого ответа в периферической крови в острейшем периоде ИИ вероятно можно считать соотношение концентраций sFasL и sFas. Это соотношение, как показало диссертационное исследование, обладает наибольшей прогностической мощностью по сравнению со всеми другими исследованными параметрами, которые также могут быть использованы как прогностические маркеры исхода острого периода ИИ при поступлении пациента в стационар в 1 сутки после развития сосудистой катастрофы (sFasL, абсолютное содержание CD3CD95 позитивных лимфоцитов, TNF α , соотношение концентраций TNF α и sTNF-R1).

Темп изменения уровня неврологического дефицита наиболее сильные корреляционные связи имеет с показателями системы TNF α и абсолютным содержанием CD3CD95 позитивных лимфоцитов.

В остром периоде ИИ реализация адаптивных процессов в нервной ткани головного мозга ведущих к восстановлению или адекватному замещению утраченных функций тесно связана с закономерностями развития специфического иммунного ответа, в реализации которого значимую роль имеют регулирующие апоптоз факторы систем Fas и TNF α .

Наиболее перспективными мишенями для терапевтического воздействия в остром периоде ИИ являются восполнение энергетического и субстратного дефицита и формирование адекватного воспалительного ответа. В приоритете должно быть не подавление системной воспалительной реакции, а организация условий для развития характерной для группы пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ динамики следующих за ним и зависящих от него реакций специфического иммунного ответа.

Для пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением острого периода ИИ в исходе острого периода величина концентраций гуморальных регулирующих апоптоз эффекторов систем Fas и TNF α имеет разное патогенетическое и клиническое значение. Это позволяет говорить о том, что эффект воздействия фактора не может быть определен вне контекста условий окружающей рассматриваемого объекта среды. Задаче выявления этих условий и возможностей управления ими посвящена следующая глава настоящей работы [109, 531].

8.3 Влияние стресс-реализующей системы на эффект регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α и клиническое течение острого периода ишемического инсульта

Анализ результатов диссертационного исследования позволяет сделать вывод о том, что эффекты регулирующих процесс апоптоза факторов в патогенезе ИИ зависят от времени, которое прошло с момента его манифестации. Так, в острейшем периоде ИИ нарастающие концентрации TNF α и sFasL потенцируют преимущественно воспалительный ответ, повреждение ткани головного мозга и гибель нейронов, приводя к

усугублению неврологического дефекта у пациентов. В отличие от этого, в исходе острого периода ИИ повышение концентрации sFasL и других показателей, отражающих вероятность взаимодействия sFasL с рецепторами на мембране клеток (в том числе нейронов коры головного мозга) были сопряжены с реализацией адаптивных саногенетических механизмов и процессов нейропластичности, которые обеспечивали благоприятный исход острого периода ИИ.

Так, в исходе острого периода ИИ в различных подгруппах пациентов наблюдалась разная динамика уровней эффекторов регулирующих апоптоз систем TNF α и sFasL. Для подгруппы благоприятного исхода характерным было достоверное увеличение значений параметров, отражающих содержание регулирующих апоптоз факторов в периферической крови: концентрации TNF α , соотношения концентраций TNF α и sTNF-R1, уровня sFasL, соотношения уровней sFasL и sFas, и особенно значимо – показателя sFasL-эффективности. В тоже время у пациентов из подгруппы неблагоприятного исхода острого периода ИИ во временном диапазоне 7-е – 21-е сутки достоверных изменений концентрации эффекторов регулирующих апоптоз систем FasL и TNF α не происходило, отмечалось лишь достоверное уменьшение значения показателя sFasL-эффективности.

Это свидетельствует об увеличении вероятности взаимодействия регулирующих апоптоз факторов с соответствующими трансмембранными рецепторами, расположенными в том числе и на поверхности нейронов, в исходе острого периода ИИ у пациентов с хорошим функциональным восстановлением и о снижении этой вероятности у пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ. При этом в группе контроля при достоверно более низких концентрациях регулирующих апоптоз факторов в периферической крови отмечалось достоверно более высокое значение sFasL-эффективности. Т.е. в подгруппе пациентов с благоприятным исходом к 21-м суткам исследования этот показатель стремился к контрольным значениям, в то время как в подгруппе неблагоприятного -

наоборот. При этом на 7-е сутки от начала развития сосудистой катастрофы нарастание этого показателя является неблагоприятным прогностическим знаком.

Таким образом, в исходе острого периода ИИ (т.е. к 21-м суткам исследования) увеличение активности $\text{TNF}\alpha$ и sFasL в периферической крови пациентов подгруппы с благоприятным исходом острого периода ИИ соответствует более эффективной реализации адаптационных процессов, и, возможно, является механизмом ее обеспечения, чего не наблюдается в подгруппе неблагоприятного исхода.

Для пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением острого периода ИИ закономерности изменения соотношений эффекторов апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных систем Fas и $\text{TNF}\alpha$ имеют разное патогенетическое и клиническое значение. Следовательно эффект изменения концентрации и активности регулирующих апоптоз факторов не может быть смоделирован вне контекста других характеристик рассматриваемого объекта. Клинически важная задача заключается в поиске ограниченного числа информативных показателей, которые можно легко измерять, производить их клиническую оценку и на которые представляется возможным оказывать терапевтическое влияние у пациентов в остром периоде ИИ, а также моделировать в эксперименте.

Задаче выявления этих параметров и возможностей управления ими посвящена настоящая глава.

Приведенные в предыдущих главах фактические данные дают основания заключить, что уже в остром периоде ИИ у пациентов формируются вполне определенные закономерности динамики эффекторов нейрогуморальных стресс-реализующих систем, которые оказывают достоверное влияние на течение и исход острого периода ИИ.

Они заключаются в быстрой активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у всех пациентов с ИИ. У пациентов с неблагоприятным исходом в острейшем периоде происходило достоверно

более высокое по сравнению с пациентами подгруппы благоприятного исхода увеличение концентрации АКТГ и кортизола в периферической крови, а уровень эффекторов симпато-адреналовой системы достоверно не изменялся. У пациентов из подгруппы благоприятного исхода концентрации эффекторов симпато-адреналовой системы на первые сутки ИИ напротив были достоверно выше, уровень кортизола был также достоверно выше, чем в группе контроля, однако, достоверно ниже, чем в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом.

В острейшем периоде выявлены достоверные корреляционные связи между концентрациями эффекторов стресс-реализующей системы и воспалительного ответа, а также выраженностью неврологического дефицита. Одним из объяснений такой корреляции может быть то, что с объемом пораженной вследствие ишемии функционально активной ткани головного мозга связана выраженность неврологического дефицита. Пораженная ишемией ткань сама по себе является источником провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-6. При этом учитывая активацию и стимуляцию этими цитокинами специфического и неспецифического механизмов иммунитета, с увеличением очага поражения следует ожидать и более интенсивного ответа иммунной системы. Учитывая, что уровни кортизола и АКТГ прямо достоверно коррелировали с тяжестью неврологического дефицита, очевидно, что объем поражения ткани оказывает влияние и на интенсивность ответа гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Однако для симпато-адреналовой системы такой закономерности не прослеживалось. Так, концентрация адреналина в крови в острейшем периоде обратно коррелирует с тяжестью неврологического дефицита, а концентрация норадреналина не имеет достоверных связей с клиническими показателями тяжести состояния пациента.

В острейшем периоде ИИ характер активации стресс-реализующей системы оказывает влияние на исход острого периода ИИ. Так, преимущественная активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой

системы отмечается у пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ, а симпато-адреналовой системы - у пациентов с благоприятным исходом.

Связь эффекторов стресс-реализующих систем с темпом и качеством процесса восстановления может быть объяснена их влиянием на метаболическую и регуляторную основу компенсаторно-приспособительных механизмов после перенесенного стрессового воздействия. Известно, что глюкокортикоиды, в частности кортизол, оказывающий наибольшее влияние на интенсивность стресс-реакции, при умеренном и среднем повышении его концентрации оказывает протекторное действие [13].

Доказано, что глюкокортикоиды стимулируют процессы повышения энергетического обеспечения клеток, уровень которого существенно определяет адаптационные резервы органов и тканей. Это происходит вследствие ряда эффектов: стимуляции глюконеогенеза в скелетных мышцах и усиления высвобождения глицерина из жировой ткани [349], повышения экспрессии генов пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируват карбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы, глюкозо-6-пируват карбоксилазы и глюкозо-6-фосфазы, стимуляции липолиза, увеличения активности АТФ-синтазы и митохондриогенеза при высокой потребности в энергии, индукции процессов фосфорилирования, активации протеинкиназы А, усиления липолитического действия катехоламинов и повышения чувствительности адренорецепторов [644].

Благоприятное влияние умеренной гипергликемии на уменьшение объема инфаркта мозга экспериментально показано при моделировании ИИ. Клинически показано, что реактивное увеличение уровня кортизола и глюкозы в сочетании с нормальным уровнем инсулина характерны для благоприятного течения инсульта с регрессом неврологических нарушений [53].

Индукцированная стрессом гипергликемия не связана напрямую с исходом острого ИИ [583]. Однако, пациенты со стрессовой гипергликемией

имеют больший набор факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, чем пациенты с нормогликемией. Это, вероятно, явилось причиной разнонаправленных выводов о негативном ее влиянии на исход ИИ по результатам более ранних исследований. Причиной гипергликемии в остром периоде инсульта могут быть нарушения углеводного обмена, не диагностированные ранее [654].

Воздействие небольших и средних доз глюкокортикоидов способствует ограничению интенсификации перекисного окисления липидов и протеолиза. Глюкокортикоиды оказывают также влияние на активность ферментов обмена нейропептидов и системы тормозных медиаторов (γ -аминомасляную кислоту, дофамин, серотонин, глицин, опиоидные и другие пептиды) центрального звена антистрессовой системы организма, участвуют в регуляции синаптической трансмиссии и позитивно влияют на механизмы нейропластичности [358, 553].

В избыточных концентрациях, а также при их длительном воздействии, кортизол приводит к негативным эффектам: метаболическим нарушениям, нарушению иммунного ответа и другим осложнениям. Высокие уровни кортизола сразу после инсульта связывают с более выраженным неврологическим дефицитом, гипотрофией мозга, нарушениями целостности белого вещества и когнитивных характеристик в течение 24 месяцев после инсульта [570]. Избыточные концентрации кортизола способствуют повреждению нервных клеток гиппокампа, которые имеют большое количество рецепторов к минерало- и глюкокортикоидам. Повышенный уровень кортизола в периферической крови взрослых крыс подавляет образование и дифференцировку нервных клеток-предшественников в гиппокампе [132].

Уровень кортизола в слюне пропорционален вероятности возникновения умеренных когнитивных нарушений после ИИ, что даже рекомендуется использовать в качестве прогностического маркера. Выявлено, что высокий уровень кортизола в крови прямо связан с

ухудшением когнитивных функций, уменьшением объемов головного мозга, повреждением микрососудов и изменениями его микроструктуры [234].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что умеренное повышение концентрации кортизола в периферической крови при ИИ способствует как непосредственной стимуляции процессов нейропластичности, так и их метаболическому и субстратному обеспечению, что характерно для пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ. Чрезмерное увеличение уровня кортизола в крови имеет отрицательный эффект и характерно для пациентов с неблагоприятным течением ИИ.

Однако, учитывая, что концентрации эффекторов стресс-реализующих систем не выходили за пределы референсных значений ни в одной подгруппе исследования, то эти показатели не могут быть использованы в клинической практике для однозначной оценки состояния пациента с ИИ в стационаре. Эта задача была решена следующим образом.

По вышеизложенным результатам нашего исследования концентрации кортизола и АКТГ достоверно коррелировали с баллом по шкале для экспресс-оценки тяжести депрессии и тревоги по Госпитальной Шкале Тревоги и Депрессии Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) [655]. Эта шкала обладает высокой дискриминантной валидностью в отношении тревоги и депрессии, удобством, быстротой и простотой использования, легкостью интерпретации результатов. Она состоит из двух частей. Для интерпретации необходимо суммировать баллы по каждой подшкале (депрессии и тревоги) в отдельности. Соответственно количеству набранных баллов в обоих разделах выделяют следующие состояния: 0-7 баллов соответствуют клинической норме (отсутствие достоверно выраженных симптомов тревоги и депрессии); 8 - 10 баллов - субклинически выраженная тревога / депрессия; 11 баллов и более - клинически выраженная тревога / депрессия. В настоящем исследовании у пациентов после ИИ разбросы баллов по этой шкале имели широкий диапазон, выходя за пределы нормальных значений и при этом достоверно коррелировали как с

концентрацией кортизола и АКТГ, так и с выраженностью неврологического дефекта. Состояние клинически выраженной депрессии по этой шкале соответствовало неблагоприятному исходу острого периода ИИ. Следовательно, уровень депрессии в баллах по шкале HADS для ее экспресс-оценки можно использовать как прогностический ориентир для исхода острого периода ИИ (12 баллов и более - предиктор неблагоприятного исхода).

Большей клинической информативностью по сравнению с концентрацией кортизола шкала HADS обладает вследствие того, что для пациентов с депрессией помимо повышения концентрации кортизола характерны также поперечные и продольные изменения суточной кривой, в частности ее сглаживание. Показано, что пациенты с депрессией имеют достоверно более высокие уровни кортизола как утром, так и во второй половине дня, чем в контрольной группе здоровых добровольцев [645]. В диссертационном исследовании в соответствии с поставленными задачами оценивали утреннюю концентрацию кортизола и закономерности ее изменения на основных этапах восстановления после ИИ. Так как это лишь одна характеристика изменения концентрации кортизола, то балл по шкале HADS обладает большей чувствительностью. К тому же использование шкалы-опросника более практичный, щадящий для пациента и экономически выгодный способ прогнозирования исхода острого периода ИИ, чем мониторингирование суточного профиля гормонов стресс-реализующей системы.

Результаты работ других коллективов подтверждают, что повышение уровня кортизола в периферической крови ассоциирует с депрессией. Объяснение этой связи на настоящий момент остается спорным. Наиболее популярной считается версия о подавлении обратных связей в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе [257].

Среди большого числа предположительных вариантов патогенеза депрессий наибольшее распространение получили три. Первый –

«моноаминергическая теория», которая связывает патогенетические звенья депрессии и тревоги с дефицитом серотонина и норадреналина в структурах головного мозга. Второй – «гормональная теория», согласно которой, ведущим является нарушение состояния гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Третий вариант на первый план выдвигает эффекты воспаления [17].

Все три вышеприведенных варианта патогенеза депрессии можно свести к обобщающей схеме, имеющей много общего с процессами, происходящими в головном мозге после ИИ. Так, провоспалительные цитокины, включая ИЛ-6 и $\text{TNF}\alpha$, способны приводить к длительной активации микроглии и астроцитов. Таким образом они влияют на процессы нейропластичности в зонах, ответственных за когнитивные функции и настроение, например, в префронтальной коре, миндалине, гиппокампе и передней поясной извилине. Активированная микроглия в свою очередь высвобождает те же провоспалительные цитокины, замыкая порочный круг патологических изменений. При развитии ИИ, в его острейшем и последующих периодах процессы локального и системного воспалительного ответа на ишемическое повреждение ткани мозга имеют схожие закономерности развития [17, 18]. Как описывалось в предыдущей главе при развитии ИИ первоначально источником цитокинов является ишемизированная ткань головного мозга, затем системный ответ иммунной системы на локальное повреждение нервной ткани и появление в периферической крови забарьерных мозгоспецифических антигенов. Из результатов диссертационного исследования видно, что для пациентов после ИИ характерно увеличение концентрации провоспалительных цитокинов на протяжении всего острого периода.

Биохимические каскады, сопряженные с процессом воспаления, влияют на метаболизм моноаминов и чувствительность к ним рецепторов в головном мозге [508]. С ними также сопряжена избыточная активация свободнорадикальных процессов перекисного окисления, которые приводят

к дестабилизации мембран синаптических соединений. В совокупности это ведет к нарушениям морфологического субстрата межнейронных взаимодействий, а, следовательно, к функциональному дефициту в зависимости от преимущественной области повреждения: эмоциональному, когнитивному, сенсорному и двигательному [595].

Увеличение локальной концентрации провоспалительных цитокинов в ткани головного мозга при депрессии сочетается с активацией глутаматом рецепторов N-метил-D-аспарагиновой кислоты, сопряженных с ионофорными каналами для ионов кальция. Это может приводить к развитию эксайтотоксического эффекта, а также к уменьшению экспрессии мозгового нейротрофического фактора, что сопряжено с разрушением синаптических соединений и гибелью нейронов [307].

Подобная связь выявлена в патогенезе острого периода ИИ. Также установлено, что уровни растворимых медиаторов воспаления и, в частности, ИЛ-6 в спинномозговой жидкости повышаются после инсульта, что способствует изменению механизмов цереброваскулярной ауторегуляции в головном мозге. Их концентрации прямо достоверно связаны с вероятностью летального исхода после инсульта [264].

В нашем исследовании на выборке пациентов существенно превышающей предыдущие работы показана связь концентраций ИЛ-6, TNF α и sFasL при поступлении, когда они, как обсуждалось ранее, оказывают преимущественно провоспалительные эффекты, с уровнем неврологического дефекта в исходе острого периода ИИ.

ИЛ-6, также как и глюкокортикоиды, в адекватных концентрациях играет значимую роль в реализации саногенетических процессов. Однако его чрезмерная экспрессия способствует повреждению тканей и создает условия для взвинчивания воспалительного и аутоиммунного ответов а также нарушению механизмов цереброваскулярной ауторегуляции [281].

Цереброваскулярная ауторегуляция - это гомеостатический механизм, с помощью которого обеспечивается оптимальное кровенаполнения

микроциркуляторного русла нейроваскулярных единиц в широком диапазоне системного кровяного давления в зависимости от их функциональной активности. Несоответствие кровотока метаболическим потребностям нервной ткани приводит к разрушению синаптических контактов или гибели нейронов и глиоцитов. Связывание глутамата с рецепторами NMDA вызывает дилатацию артериол мозга, пропорциональную активации нейронов и глии. Это один из механизмов цереброваскулярной ауторегуляции, который обеспечивает адекватное функциональной активности кровоснабжение в нейроваскулярной единице. При этом чрезмерное высвобождение глутамата приводит к развитию эксайтоксического каскада [147, 237].

Показано, что концентрация IL-6 и других провоспалительных агентов при инсульте влияет на цереброваскулярную ауторегуляцию сосудов головного мозга, снижая степень ее адекватности. Доказательством этого предположения авторы цитируемой работы считают то, что некроз нейронов гиппокампа предотвращался при участии высокоафинного антагониста ИЛ-6. Это, в свою очередь, отражалось на уровне неврологического дефекта и поведения у экспериментальных животных. Основываясь на том, что повреждение гиппокампа ухудшает обучение и память, авторы связывают цереброваскулярную гемодинамику с постинсультной когнитивной дисфункцией и качеством восстановления [147].

Описан внутриклеточный сигнальный механизм, сопряженный с усилением активации NMDA-R посредством увеличения концентрации ИЛ-6, способствующий нарушению цереброваскулярной реактивности после инсульта. Он заключается в способности тканевого активатора плазминогена (его концентрация возрастает при ИИ, а также при отсутствии противопоказаний его вводят с целью реканализации в период терапевтического окна) связываться с липопротеин-связанным рецептором, опосредующим вазодилацию и проницаемость гемато-энцефалического барьера, а также с NMDA-R, которые ингибируют эти изменения в

поведении сосудистой сети. Считается, что при инсульте преобладает NMDA-R-зависимый путь вследствие высвобождения высоких локальных концентраций эндогенного тканевого активатора плазминогена и эндогенного глутамата, и значительного потенцирования этого пути при терапевтическом применении активатора плазминогена. Это напрямую влияет на механизмы развития физиологической артериальной гиперемии [146]. Таким образом, высокие концентрации ИЛ-6 способствуют нарушению церебральной ауторегуляции через механизм, опосредованный NMDA-R, что является общим патогенетическим звеном развития депрессии и ИИ.

В нашем исследовании выявлена достоверная положительная корреляционная связь между концентрацией ИЛ-6 и выраженностью неврологического дефекта во все сроки исследования, такая же по силе и направленности связь была и с уровнем депрессии и чуть меньше - тревоги. При этом концентрация кортизола была ассоциирована с концентрацией ИЛ-6 наиболее сильно в первые сутки исследования.

При воспалительном процессе наблюдается повышение концентрации кортизола в системном кровотоке [558]. Так, повышение концентраций провоспалительных цитокинов $\text{TNF}\alpha$ и ИЛ-6 сопряжено с активацией гипоталамо-гипофизарной оси.

При развитии острого воспаления ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники и симпатическая нервная система играют важную роль в энергообеспечении развития закономерных механизмов активированной иммунной системы. Существенную роль в гормональном сопровождении воспалительного процесса имеют также гормоны роста, щитовидной железы и ренин-ангиотензин-альдостероновая система. Обе гормональные оси реализации стресса могут быть активированы циркулирующими цитокинами, а ИЛ- 1β , ИЛ-6, $\text{IFN}\gamma$, $\text{IFN}\alpha$ и $\text{TNF}\alpha$ являются наиболее важными триггерами для оптимизации энергообеспечения. Установлено, что концентрация цитокинов в сыворотке при остром и хроническом воспалении определяет «спрос на энергию» [557].

В экспериментальных и клинических исследованиях был показан скачкообразный рост концентраций сывороточных уровней адренокортикотропного гормона и кортизола после инъекции цитокинов. Однако, повторные инъекции тех же цитокинов снижают чувствительность системы, так что в результате почти не наблюдаются реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в течение длительного времени. Предполагается, что такой скачкообразный рост и последующее снижение гормонов стресс-реализующей системы эволюционно закреплённый механизм развития острых стрессовых реакций и острой инфекции. В то время как резкое повышение уровня АКТГ и кортизола важно в начале острого воспаления (для энергообеспечения и стимуляции перераспределения лейкоцитов), хроническое повышение уровня АКТГ и кортизола в организме тормозится, что снижает вероятность развития сепсиса и в последующем неадекватно низкого иммунного ответа на инфекционные агенты. По результатам диссертационного исследования можно заключить, что для острейшего периода ИИ также характерен скачкообразный рост уровня гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы с последующим снижением их концентраций в периферической крови к концу первой недели после начала ИИ. Наиболее выражена эта закономерность в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом ИИ. Основная гипотеза, объясняющая изменения динамики активации стресс-реализующей системы при длительной стимуляции провоспалительными агентами, базируется на важной роли печени в реактивации кортизола [236].

Кортизол может обратимо метаболизироваться системой 11-гидроксистероиддегидрогеназ (11-HSD), которая представлена двумя ферментами: 11 α -HSD, который катализирует преобразование кортизола в кортизон, 11 β -HSD - наоборот. Кортизон является как бы «временным» депо для быстрого восполнения потребностей организма в кортизоле. Фермент 11 β -HSD обратно преобразует инертный кортизон в биологически активный

кортизол. Максимальная активность 11 β -HSD отмечается в печени и в гораздо меньшей степени в жировой ткани, гонадах, центральной нервной системе и мышцах. В условиях воспалительного процесса продукция кортизола в печени может превышать его продукцию надпочечниками из-за цитокин-управляемой активации 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы (11 β -HSD) 1-го типа. Это ведет к подавлению секреции АКТГ по механизму обратной связи вследствие повышения концентрации кортизола в сыворотке крови. В результате выработка кортизола становится все более независимой от центральной гормональной регуляции. Существуют также и другие механизмы, управляемые цитокинами, влияющие на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси на уровне гипоталамуса, гипофиза и надпочечников [645].

Так, в настоящем исследовании в подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ во временном диапазоне 7–21-ых суток после начала ИИ наблюдалось достоверное снижение концентрации АКТГ в периферической крови на фоне стабильно повышенной относительно контрольных значений концентрации кортизола. В подгруппе благоприятного исхода острого периода ИИ также наблюдалось разобщение динамики этих показателей: концентрация АКТГ достоверно не изменялась, тогда как кортизола - достоверно увеличивалась.

Повышенный уровень кортизола у пациентов с депрессией связан с прогрессированием атрофических изменений и нарастанием процесса апоптоза нейронов в гиппокампе, где имеется большое количество рецепторов к глюкокортикоидам и минералокортикоидам [294]. В настоящей работе концентрации ИЛ-6 и кортизола прямо достоверно коррелировали с соотношением концентраций эффекторов регулирующей апоптоз лиганд-рецепторной системы Fas.

Таким образом, в патогенезе острого периода ИИ и состояния депрессии и острого периода ИИ много общих звеньев, которые способны

взаимно инициировать, пролонгировать и ингибировать их действие (Рисунок 8.6).

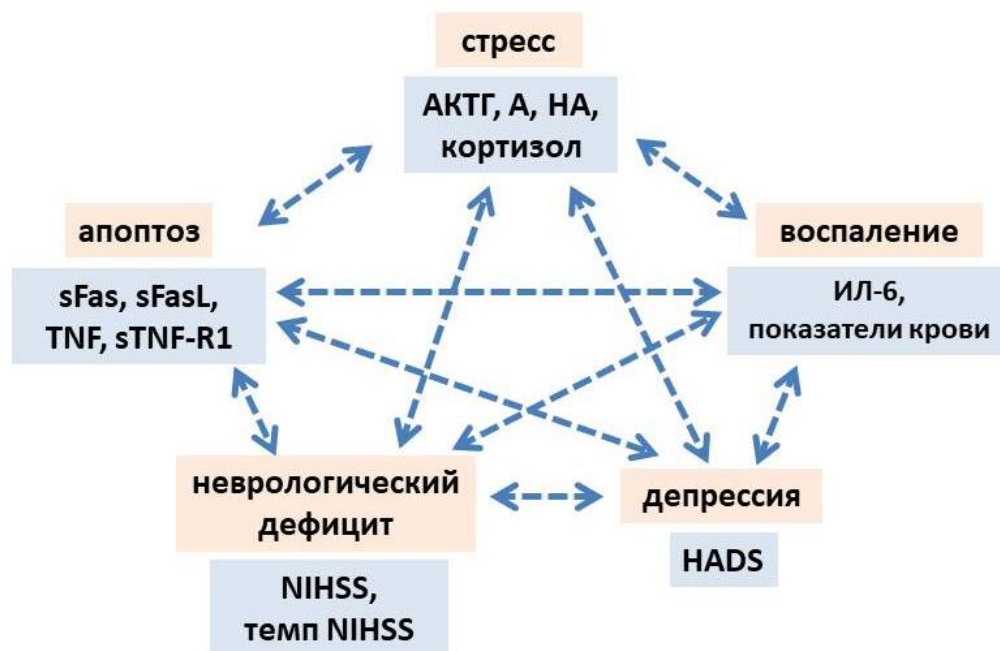


Рисунок 8.6 Схематическое изображение взаимного влияния закономерностей развития отдельных компонентов патогенеза острого периода ИИ, а также клинические и лабораторные показатели, отражающие это влияние, использованные в настоящей работе

Это утверждение соответствует клиническим данным. Так, показано, что перенесенный инсульт - фактор риска развития депрессии, частота развития депрессии после ИИ составляет около 40%, она максимальна в первые 3 - 6 месяцев, а затем уменьшается на 50% в год [154]. У пациентов после ИИ в бассейне средней мозговой артерии депрессивная симптоматика сохраняется в течение полугода в 82% случаев, через год - в 62%. Постинсультная депрессия приблизительно в 8 раз ухудшает прогноз выживаемости [578].

Нами выявлена также связь выраженности депрессии, с уровнями основных эффекторов стресс-реализующих систем у пациентов с ИИ с учетом качества восстановления пациентов в его остром периоде.

Так, при построении зависимости выраженности неврологического дефицита в баллах по шкале NIHSS в 1-е сутки от уровня депрессии на 7-е сутки исследования обращала на себя внимание тенденция формирования двух совокупностей (Рисунок 6.7). Первую составляли пациенты с уровнем выраженности депрессии ниже 8 баллов по шкале HADS. Однако, при этом у них отмечался широкий диапазон тяжести неврологического дефицита на 1-е сутки, во второй - уровень неврологического дефицита в подавляющем большинстве случаев был больше 10, что сопровождалось наличием субклинически и клинически выраженной депрессии. Это дает основание для формулирования ориентировочного прогноза развития депрессии у пациентов с ИИ. К 21-м суткам для депрессии, а также во все сроки исследования для уровня тревоги такого разделения выявлено не было. Таким образом, тяжесть неврологического и функционального дефицита при поступлении пациента в стационар (балл по шкале NIHSS больше 10) является предиктором развития депрессии в течение острого периода ИИ.

В настоящей работе так же было показано достоверное влияние выраженности депрессии и тревоги в конце первой недели пребывания пациента в стационаре на исход острого периода ИИ и темп его восстановления, что может быть объяснено не только с учетом знания механизмов нейромодулирующих влияний, но и клинических данных (Рисунок 8.7). Это важно для практической медицины, так как позволяет определить способы воздействия на процессы восстановления морфологического и биохимического обеспечения утраченных в результате некроза части функционально активной ткани головного мозга функций пациента (двигательный, сенсорный, когнитивный дефект) воздействуя извне в рамках программы реабилитационных мероприятий.

Доказано, что преобладающий тип копинг-стратегии влияет на успешность реабилитационных мероприятий, на оцениваемое по различным шкалам качество жизни после ИИ, а также на риск развития повторного ИИ [184]. Результаты ряда исследований показали также, что неадаптивные

копинг-стратегии при ИИ ассоциированы с депрессией и худшим исходом [615].

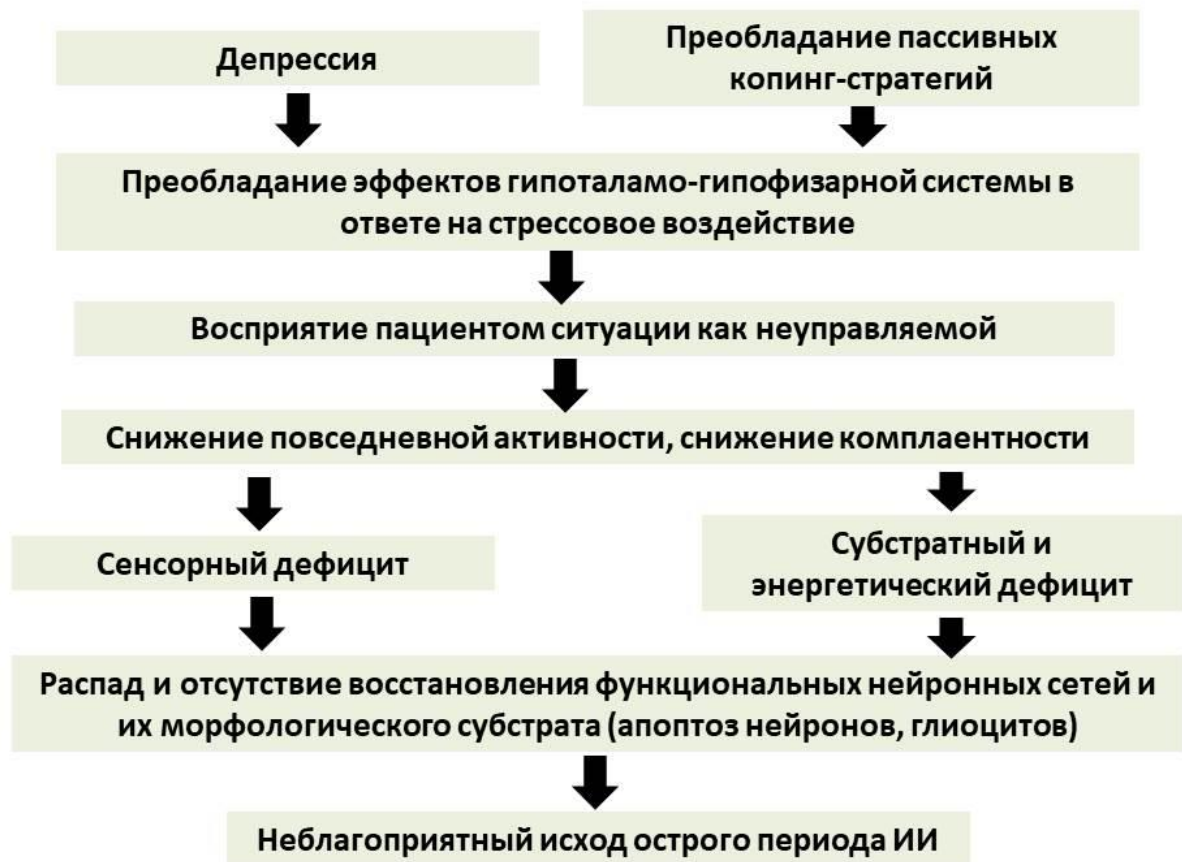


Рисунок 8.7 Схема влияния преобладания эффектов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в ответ на стрессовое воздействия у пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ

Копинг-стратегия - это поведенческие и когнитивные приемы, применяемые индивидами, чтобы справиться со взаимоотношениями индивид-среда. Это динамичный процесс, состоящий из серии ответных реакций, посредством которых человек и окружающая среда взаимно влияют друг на друга. В зависимости от успеха или неудачи этого процесса, копинг может быть определен как функциональный (адаптивный) или дисфункциональный (усиливающий стресс) [368].

Lazarus и Folkman в зависимости от индивидуальной интерпретации ситуации, как неизбежной или как изменяемой, различают две основных

группы копинг-поведения: активный и пассивный копинг [368]. Ряд авторов приравнивают понятия проактивный и адаптивный копинг у пациентов, перенесших инсульт, считая при этом социальную активность основной мерой качества восстановления [615].

Активное копинг-поведение – это целенаправленное поведение для устранения или избегания угрозы (борьба или отступление), предназначенное для изменения стрессовой связи с физической или социальной средой. Оно ассоциировано с преобладанием эффектов симпатoadреналовой системы. Пассивное копинг-поведение представляет собой интрапсихические формы преодоления стресса, являющиеся защитными механизмами, предназначенные для снижения эмоционального возбуждения раньше, чем изменится ситуация. Установлено, что при данном типе реакции на стрессовое воздействие преобладающее действие оказывает гипоталамо-гипофизарная система и основной посредник ее эффектов кортизол [321].

Показано также, что развитие депрессии ассоциировано с преобладанием у пациента пассивных копинг-стратегий и сходным дисбалансом в регуляции ответа стресс-реализующих систем. Для депрессивного расстройства характерен повышенный уровень кортизола и отклонения в суточном ритме его секреции, что приводит к повышению внимания к негативным стимулам и угнетает сложные когнитивные процессы. Повышение концентрации кортизола в периферической крови при депрессии в сочетании с нарушением обратных отрицательных связей, регулирующих ее стабилизацию после стрессового воздействия приводит к преобладанию дисфункциональных копинг-стратегий [615].

Для пациентов с преобладанием пассивных копинг-стратегий характерны плохой комплаэнс и снижение повседневной активности, что ведет к, уменьшению количества значимых стимулов, «обеднению» среды, неиспользованию функциональных резервов для восстановления утраченных в результате ИИ функций [66].

В результате происходит снижение специфической стимуляции нейронов, которая необходима для активации выработки нейротрофических факторов [40]. Так, синтез нейротрофических факторов, включая мозговой нейротрофический фактор, достоверно увеличивается в ответ на физическую нагрузку, гипертермию, гипоксию, акупунктурное воздействие, транскраниальную магнитную стимуляцию, изменение пищевых рационов, и в целом – на «обогащение среды» [72, 382], которое может представлять из себя в том числе и какое-либо стрессовое воздействие [9, 382]. Нейротрофические факторы выполняют множество функций. Но наибольшую их значимость исследователи видят в регуляции нейрогенеза, а именно: в стимуляции трансформации и миграции прогениторных и стволовых клеток, что может рассматриваться при ИИ как основной механизм заместительной репарации [11, 35, 374].

Показано, что преобладание пассивных копинг-стратегий у индивида ассоциировано с плохой обучаемостью [572]. Для пациентов, перенесших ИИ это означает плохой эффект реабилитационных мероприятий [20].

Разработаны клинически эффективные методики психологической коррекции, применение которых может формировать адаптивную копинг-стратегию у пациентов в условиях стационара, что повышает успешность реабилитационных мероприятий [230].

Таким образом, патогенетическая роль концентрации эффекторов регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α у пациентов в остром периоде ИИ зависит от закономерностей активации стресс-реализующей системы.

Умеренное повышение концентрации кортизола в периферической крови при ИИ необходимо как для непосредственной стимуляции процессов нейропластичности, так и для их метаболического и субстратного обеспечения и имеет адаптивное значение. Это характерно для пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ. Чрезмерное ее увеличение

имеет отрицательный эффект, ведет к дезадаптации и характерно для пациентов с неблагоприятным течением ИИ.

Острейший период ИИ характеризуется закономерным повышением концентрации эффекторов стресс-реализующих систем у всех пациентов. Однако, оно происходит в рамках референсных значений и, следовательно, не может быть использовано в клинической практике для оценки состояния и прогноза течения и исхода у пациентов с ИИ в стационаре. При этом выраженность депрессии и тревоги по шкале HADS связана с концентрацией эффекторов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси независимо от исхода острого периода ИИ и может быть использована для клинической оценки ее состояния, а также прогноза исхода острого периода ИИ.

В целом, результаты статистического анализа полученных фактических данных дают основание заключить, что в остром периоде ИИ закономерности регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α существенно влияют на его течение и исход, а также зависят от закономерностей активации стресс-реализующих систем.

В настоящее время существуют клинически эффективные способы воздействия на интенсивность и характеристики активации стресс-реализующих систем у пациентов в остром периоде ИИ. С учетом результатов настоящего исследования от закономерностей активации стресс-реализующих систем у пациентов в остром периоде ИИ зависит роль и значение регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем Fas и TNF α . Механизмы развития депрессии и ИИ имеют сходные компоненты, которые в остром периоде ИИ становятся общими, взаимно дополняя и усиливая друг друга у пациентов с неблагоприятным течением острого периода. Это объясняет их перекрестный прогностический потенциал, наглядно продемонстрированный в настоящей работе. Также вышеприведенные результаты наших исследований и анализа данных современной литературы патогенетически обосновывают необходимость профилактики и коррекции

депрессивных состояний, а также работы с пациентами с ИИ с целью формирования у них адекватных копинг-стратегий [2, 48, 90].

8.4 Закономерности гистологических изменений в коре головного мозга при ИИ. Роль апоптоза нейронов в патогенезе его острого периода.

При комплексном исследовании ткани коры головного мозга пациентов, которые умерли в результате ИИ в бассейне левой средней мозговой артерии в острейшем периоде, были выявлены закономерные структурные изменения. Характер закономерностей зависел от зоны исследования материала.

При визуальной оценке окрашенных по методике Ниссля и гематоксилином-эозином гистологических срезов пространственная организация коры головного мозга была разной в разных зонах и отличалась от группы контроля. В зоне 1, прилежащей непосредственно к очагу некротической ткани, и в зоне 2 («зоне пенумбры»), находящейся на расстоянии 4-7 см от первой, была изменена цитоархитектоника: в них утрачивалась дифференцировка слоев. В зоне 3 кора головного мозга имела характерную организацию. В этой зоне у всех пациентов присутствовали признаки единообразной и сопоставимой ткани. В связи с этим изменения в зонах 1 и 2 являются последствием ишемического воздействия, а не индивидуальными особенностями. Во всех зонах мозга, в том числе и в контралатеральном полушарии (зона 3) обращало на себя внимание диффузное «запустение» участков коры головного мозга. Такое «запустение» выражалось локальным уменьшением количества нейронов и глиальных клеток на единицу площади. Структурных отличий от контроля в ипсилатеральном полушарии было больше, чем в контрлатеральном. В зоне 1, наиболее приближенной к некротическому ядру, ткань головного мозга была наиболее изменена.

Данные, полученные при первичной визуальной оценке, подтверждены при количественной оценке морфологической картины. По мере удаленности исследуемой зоны от некротического очага выявлено увеличение плотности

расположения и уменьшение доли поврежденных нейронов (в пересчете на 1 мм² поля зрения). Значения исследованных параметров в образцах контралатерального очагу полушария (зона 3) достоверно отличались от значений контрольных образцов. Это послужило одним из доводов для формулирования положения о том, что при развитии локального ишемического повреждения головного мозга последующие изменения затрагивают участки коры, которые имеют кровоснабжение из других источников и не были подвержены при развитии ишемии напрямую.

В ряде работ других авторов отмечено, что у пациентов с инсультом структурные повреждения и реорганизация коры головного мозга могут происходить в областях за пределами непосредственного поражения. При исследовании структурных изменений серого и белого вещества головного мозга у пациентов с инсультом с использованием воксел-ориентированной морфометрии выявлены диффузные изменения и в ипсилатеральных ишемическому очагу, и в контралатеральных областях головного мозга [300]. В экспериментальных исследованиях на животных показано увеличение числа нейронов и глиальных клеток, подверженных апоптозу в отдаленных от ишемического очага областях головного мозга, где не было нарушений кислородного и субстратного обеспечения [395, 520]. Результаты этих экспериментальных работ соответствуют данным, полученным в нашем исследовании о том, что после ИИ в контралатеральном ишемическому очагу полушария достоверно относительно контрольных значений увеличивается доля нейронов, имеющих положительную иммуногистохимическую реакцию с белками p53, каспаза 8, каспаза 3. Причина этого явления до сих пор убедительно не объяснена, и в ряде работ контралатеральное ИИ полушарие используется как контроль [164].

В нашей работе предлагается следующее объяснение этого феномена. Нейроны объединены в сети при помощи анатомических связей – синапсов [540]. Эти связи не функционируют постоянно, а иницируются лишь при возникновении определенного внешнего или внутреннего (относительно

организма), стимула. В реализации адаптивной реакции на этот стимул активируется нейронная сеть [77]. Каждая такая активация нейронной сети приводит к упрочению анатомических связей. При бездействии сети анатомические связи могут быть утрачены [235]. Таким образом, изменение микроокружения нейронов может формировать структурные и функциональные изменения в нервной системе. Анатомическая организация центральной нервной системы не является строго predetermined. Она возникает вследствие динамической эпигенетической регуляции процессов, обеспечивающих нейропластичность (прунинга, спраутинга, клеточной смерти, деления, миграции, адгезии) [465, 534].

При развитии ИИ происходит потеря части анатомического субстрата нейронных сетей, участвовавших ранее в формировании различных реакций организма (двигательных, сенсорных, когнитивных, эмоциональных). Структурное поражение, вызванное ИИ, может критически нарушить сложный баланс возбуждающих и тормозных взаимодействий и опосредовать функциональную недостаточность нейронных сетей, анатомический субстрат которых не был непосредственно поврежден в результате развития ИИ [609].

При потере части анатомического субстрата на уровне организма наблюдается функциональная недостаточность: неврологический, когнитивный, эмоциональный дефект или их сочетание [75, 121]. При этом на уровне нейронов наблюдается недостаточная их стимуляция в рамках поврежденной функциональной сети нейромедиаторами, ростовыми факторами, электрическими импульсами. Недостаточность стимуляции может приводить к локальной или тотальной активизации процесса апоптоза в нейронах, в результате чего либо утрачивается его (нейрона) часть, либо он погибает в целом (Рисунок 8.8). [114, 292]. Реализация апоптоза лежит в основе одного из механизмов нейропластичности и ремоделирования нейронов – прунинга. Образование функциональных нейронных сетей включает процессы связанные как с образованием, так и с удалением

нефункционирующих или энергозатратных компонентов. Например, отсечение аксонов и дендритов (прунинг) связано с устранением синапсов и является значимым механизмом удаления избыточных нейронных связей. Прунинг регулируется взаимодействием между нейронами и глиальными клетками. Этот и другие механизмы ремоделирования нейронной сети требуют точного пространственного и временного контроля, который зависит от микроокружения каждого составляющего ее элемента [501].

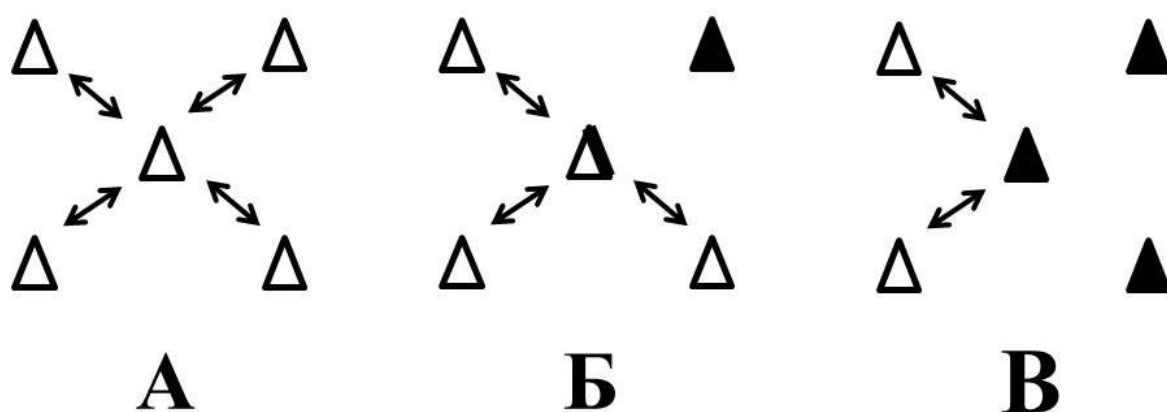


Рисунок 8.8 Схема локальной или тотальной активизации процесса апоптоза в нейронах при недостаточной их стимуляции в рамках поврежденной при ИИ нейронной сети. А -отсутствие повреждений; Б – утрата части анатомического субстрата, локальная реализация апоптоза в нейроне, изображенном в центре (прунинг); В - утрата большей части анатомического субстрата, реализация апоптоза в нейроне, изображенном в центре

Образование и функционирование нейрон-нейронных связей зависит от функциональных взаимодействий между различными компонентами нервной ткани: нейронами, глиальными клетками (олигодендроциты, микроглия, астроциты), клетками сосудов (эндотелиальные клетки, перициты и гладкомышечные клетки), а также состояния матрикса базальной пластинки в сосудистой сети головного мозга. На представлении о локальном взаимодействии этих компонентов основана теория нейроваскулярных единиц [443]. Нейроваскулярная единица - это условно выделяемая совокупность клеток нервной ткани (нейроны, глия) и церебральных сосудов

(перициты, эндотелиоциты) головного мозга, которую можно рассматривать как единый структурно-функциональный комплекс [463]. Взаимодействие клеток нейроваскулярной единицы обеспечивает поддержание адекватного потребности уровня метаболизма нервной ткани разных участков головного мозга в зависимости от их активности путем перераспределения ограниченного количества ресурсов. Это достигается посредством регуляции тонуса гладкомышечных клеток артериальной стенки, уменьшение которого ведет к развитию артериальной гиперемии. Регуляция кровотока обеспечивается путем секреции нейронами и глиальными клетками различных биологически активных веществ, обладающих рядом плеiotропных эффектов, в число которых, как правило, входит вазодилатация и активация нейрональной активности. Таким образом обеспечивается связь изменений кровоснабжения в соответствии с увеличением или уменьшением нейрональной активности. Локальное увеличение кровенаполнения микрососудистого русла, связанное с возрастанием нейрональной активности этого участка ткани головного мозга принято называть функциональной артериальной гиперемией. Эта концепция объясняет пути реализации оптимального метаболического обеспечения активации отдельных групп нейронов в условиях относительно ограниченного количества энергии и субстратов. Такая оптимизация позволяет максимально эффективно использовать энергию и субстраты для выстраивания адаптивных стратегий в ответ на изменения показателей внешней и внутренней среды организма [463]. Показано, что это универсальный механизм, который активируется в физиологических ситуациях, таких как чтение, счет или любое другое умственное упражнение, а также при различных формах патологии, когда потребность в кислороде увеличивается в определенной области мозга, например при судорожном синдроме [278].

Неадекватное обеспечение кислородом и субстратами уменьшает эффективность работы нервной ткани, а также может приводить к ее повреждению [28].

С позиции теории нейроваскулярных единиц текущее понимание механизмов ишемического повреждения головного мозга включает оценку многоклеточных взаимодействий внутри нейроваскулярной единицы, которые могут определять развитие повреждения гематоэнцефалического барьера, гибель нейрональных клеток, глиальную реакцию и инфильтрацию иммунными клетками [185].

Таким образом, локальная ишемия головного мозга является следствием нарушения взаимосвязей между уровнями его кровоснабжения и нейрональной активности.

Ишемия, при рассмотрении ее как типовой формы патологии регионарного кровотока, характеризуется как несоответствие поступления артериальной крови к тканям и органам по сравнению с реальной потребностью в ней. Для головного мозга характерны все универсальные положения относительно механизмов ее возникновения, проявлений и последствий на органно-тканевом уровне рассмотрения [47, 360, 493]. Однако, при этом невозможно объяснить принципы функционирования головного мозга при восстановлении утраченных возможностей после ишемического повреждения [548]. Рассмотрение изменений в головном мозге при его ишемии с позиции теории нейроваскулярных единиц позволяет приблизиться к решению этой задачи. Однако, такой подход выводит представления об ишемии ткани головного мозга за рамки ее общей характеристики. В связи с этим в настоящей работе была поставлена дополнительная задача: выявить особенности типовой формы патологии недостаточности именно церебрального кровотока и рассмотрение ишемии головного мозга, как одного из ее последствий.

Ранее недостаточность церебрального кровотока не выделялась как самостоятельная типовая форма патологии регионарного кровотока

головного мозга, однако сопоставление результатов настоящей работы с результатами других исследований и их обобщение позволяют выделить особенности этого патофизиологического состояния ткани головного мозга [23, 44, 54, 464].

Нами предложено следующее представление. Недостаточность церебрального кровотока - типовая форма патологии регионарного кровотока в ткани головного мозга. Она возникает в результате несоответствия кровоснабжения компонентов нейроваскулярной единицы их потребностям в нем. Следствием чего является снижение функциональной активности нейронов в составе этих нейроваскулярных единиц, а также включающих их нейронных сетей. У пациентов такая форма патологии проявляется сочетанным или парциальным двигательным, сенсорным, когнитивным, эмоциональным дефицитом.

Типовые формы патологии как таковые характеризуются такими стандартными признаками как полиэтиологичность, монопатогенетичность, комплексность, стандартность проявлений [47].

Недостаточность церебрального кровотока является результатом большого числа причин: черепно-мозговых травм, инфекционных и паразитарных поражений головного мозга, иммунопатологических процессов в нем, а также большой группы состояний, относящихся к факторам сердечно-сосудистого риска [6, 33, 633]. Все указанные причины ведут к общему для них закономерному изменению в ткани головного мозга: несоответствию кровоснабжения нейроваскулярной единицы потребностям, входящих в нее нейронов и глиальных клеток. Это приводит к снижению функциональной активности активирующей их нейронной сети и влечет за собой перераспределение ее (сети) роли в глобальной сетевой организации головного мозга [231, 363, 525]. Таким образом, выполняется условие полиэтиологичности, как характеристики конкретной типовой формы патологии.

Монопатогенетичность. В настоящей работе представлены закономерные звенья патогенеза ишемического инсульта. Исходя из анализа литературы, все выше перечисленные причины недостаточности церебрального кровотока могут приводить к ишемии головного мозга. При этом вне зависимости от причины формируется одинаковая, стандартная, последовательность изменений. Следовательно, имеется стандартный (стереотипный) механизм развития типовой формы патологии. Основными его компонентами являются: медиаторный эксайтотоксический каскад, воспаление, внутри- и внеклеточный дисбаланс ионов и жидкости, нарушение проницаемости гемато-энцефалического барьера, чрезмерная активация свободнорадикальных процессов, активация стресс-реализующих механизмов [630]. В зависимости от локализации относительно очага ишемии и времени с момента развития сосудистой катастрофы клетки головного мозга погибают путем некроза/апоптоза или в рамках адаптации изменяют свои морфологические и биохимические характеристики.

Недостаточность церебрального кровотока может быть обратимой и необратимой. В зависимости от адекватности адаптации индивида к условиям окружающей среды в результате перераспределения значимости функциональных нейронных сетей она может быть физиологической (адаптивной) и патологической (дезадаптивной). Примерами последствий физиологической недостаточности церебрального кровотока могут быть переключение одного вида активности пациента на другой, перемена темы его размышлений, изменение настроения и т.п. Это можно верифицировать при выполнении функциональной магнитно-резонансной томографии. Патогенная недостаточность церебрального кровотока ведет к формированию очага ишемии, который клинически проявляется двигательными, сенсорными, когнитивными, эмоциональными нарушениями у пациента или их совокупностью.

Обратимые изменения в ткани мозга характеризуются сохранностью морфологического субстрата (нейронной сети) и неизменностью осуществляемой за счет его активности функции.

Необратимые изменения морфологического субстрата сопровождаются изменением или утратой функции на уровне организма.

Как типовая форма патологии недостаточность церебрального кровотока имеет характерные (стандартные) проявления и последствия, которые возможно выявлять в условиях клиники и моделировать в эксперименте. Так, локальная ишемия головного мозга, характеризуется следующими системными проявлениями: наличием неврологического дефицита (двигательного, сенсорного, когнитивного, эмоционального или их совокупности) [458], значительным увеличением в периферической крови пациента забарьерных мозгоспецифических антигенов [488], увеличением в периферической крови маркеров системного воспаления [538], увеличением концентрации эффекторов регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных систем [319], увеличением концентрации и/или эффектов факторов стресс-реализующих систем [316]. К локальным проявлениям следует относить: перераспределение функциональных сетевых взаимодействий, обеспечивающее реализацию пострадавшей (в результате ишемического повреждения) функции. Это можно выявить при проведении фМРТ. А также наличие очага ишемии. Его возможно обнаружить в острейшем периоде при проведении МРТ в режиме диффузно-взвешенного изображения, а в более отсроченные периоды – с использованием стандартных режимов МРТ и КТ исследования [81].

Типовая форма патологии является комплексом адаптивных и патогенных звеньев механизма ее развития.

Локальное перераспределение кровенаполнения ткани головного мозга происходит в физиологических условиях в рамках адаптивного ответа на значимые изменения окружающей и внутренней среды организма. Увеличение кровенаполнения, связанное с активацией участка головного

мозга, принято называть «функциональной гиперемией», которая обеспечивается регуляцией в рамках нейроваскулярных единиц [449]. При этом локальное уменьшение кровенаполнения ткани головного мозга, ведущее к уменьшению функциональной активности участка ткани головного мозга, как самостоятельный механизм регуляции выделяется на много реже. Между тем, биохимические процессы и структурные изменения, которые следуют за ним, не менее значимы для дальнейшей функциональной активности головного мозга, чем функциональная гиперемия [207, 379]. В условиях локальной недостаточности церебрального кровотока происходит адаптивная перестройка функциональных нейронных сетей и соответствующие изменения морфологического субстрата для адаптации индивида к окружающей среде [196, 233, 478]. Конечный эффект этих изменений направлен на адаптацию организма к отклонениям внешней и внутренней среды. При развитии ИИ локальная недостаточность церебрального кровотока в отдаленных от ишемического повреждения участках связана с нейроваскулярной регуляцией и является обязательным фактором переформирования функциональных нейронных сетей. Этим она обеспечивает компенсацию или замещение утраченных пациентом возможностей в результате повреждения участка головного мозга. В настоящем диссертационном исследовании выявлены и приведены доказательства того, что апоптоз – это один из ключевых процессов, обеспечивающих модификацию морфологического субстрата системы функциональных нейронных сетей после локального повреждения ткани головного мозга.

Таким образом, регионарная недостаточность церебрального кровотока может быть рассмотрена как особая типовая форма патологии регионарного кровотока. При этом локальная ишемия головного мозга может быть представлена как ее (регионарной недостаточности церебрального кровотока) следствие.

При рассмотрении ишемических событий на уровне нейронной сети с вышеуказанной позиции именно снижение активации нейронов поврежденной функциональной нейронной сети в большей мере приводит к последующему перераспределению кровотока. В результате этого в неактивных зонах мозга развивается относительный субстратный и энергетический дефицит. В настоящей работе показано, что во всех исследованных зонах головного мозга развиваются различные изменения регионарного кровотока: венозная гиперемия, стаз, ишемия, а также имеются их причины: агрегация эритроцитов, периваскулярный отек, набухание эндотелиоцитов. Это свидетельствует о наличии нарушений микроциркуляции у пациентов после ИИ, а значит и механизмов регуляции локального кровоснабжения нервной ткани в рамках нейроваскулярных единиц. Неадекватно потребностям сниженное обеспечение нейронов кислородом и субстратами метаболизма дополнительно уменьшает эффективность функционирования участков нервной ткани вне ишемически поврежденного участка и усугубляет клинические проявления инсульта. На рисунке (Рисунок 8.9) изображена схема регуляции локального кровотока в участке нервной ткани головного мозга в рамках нейроваскулярной единицы. Черным закрашены погибшие нейроны. Вследствие их гибели становится невозможным адекватное функционирование нейронной сети и выполнение организмом соответствующей этой сети функции, нарушается условие достаточной нейрональной стимуляции для увеличения просвета микрососуда и развития функциональной артериальной гиперемии. Развивается локальный субстратный и энергетический дефицит в ткани (относительно потребности), снижается эффективность процессов восстановления или замещения поврежденных структур. В результате увеличивается объем повреждения нервной ткани и спектр утраченных организмом возможностей после ИИ.

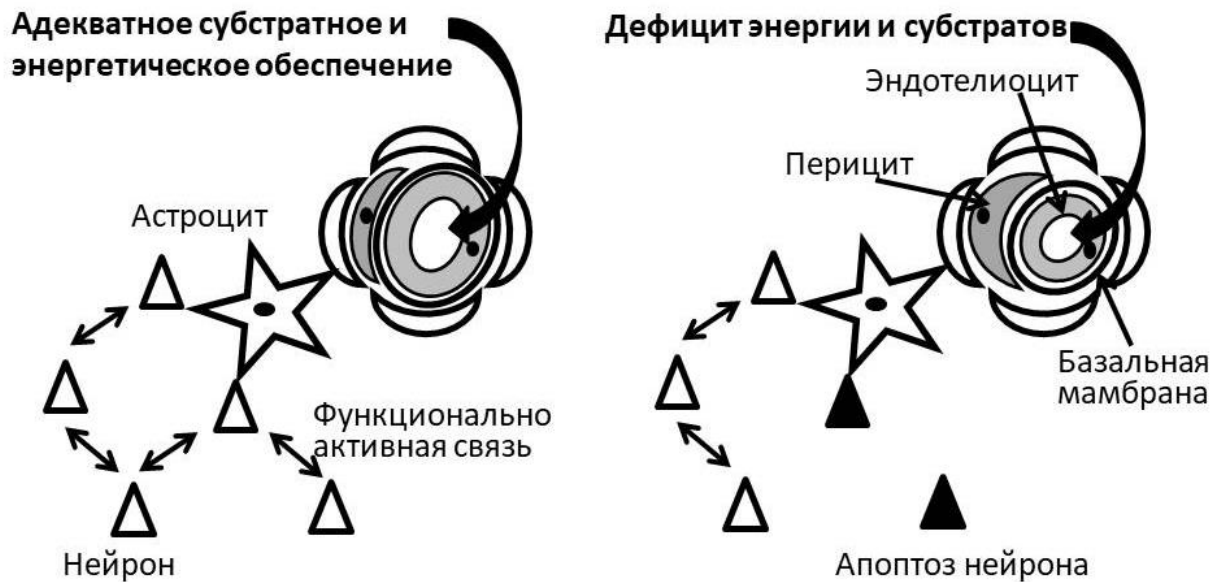


Рисунок 8.9 Схема регуляции локального кровотока в участке нервной ткани головного мозга в рамках нейроваскулярной единицы. А – При функционировании сети, ее нейроны производят электрические и химические стимулы, которые согласно нейроваскулярной концепции приводят к вазодилатации артериол, кровоснабжающих активный участок. Это обеспечивает адекватную потребности доставку субстратов и кислорода. Б – при ИИ происходит утрата части нейронов изображенной нейронной сети, она не функционирует, кровоснабжение уменьшается, что снижает нейропластический потенциал нейронов этого участка головного мозга, в т.ч. и невходящих в указанную сеть

Развивающиеся параллельно с патогенными, адаптивные процессы могут приводить при ИИ к диффузным изменениям в ткани головного мозга. Отсутствие адекватного энерго- и субстратного обеспечения нейронов вызывает перестройку функциональных нейронных сетей и формирование их наиболее эргономичных морфологических субстратов для реализации адаптивных реакций на конкретные изменения среды. Отсутствие запроса среды на адаптивные перестройки системы (совокупности факторов внешней среды, в которых находится пациент) соответствующего восстановлению утраченных пациентом после ИИ функций, ведет к отсутствию запроса и на формирование или сохранение ответственных за них функциональных сетей. В условиях ограниченного энерго- и субстратного обеспечения происходит

закономерная ликвидация морфологического субстрата, обеспечивавшего реализацию этих функций. Поэтому в рамках реабилитационной программы пациентов после ИИ и других повреждений ткани головного мозга необходимо формирование оптимального запроса среды начиная с самых ранних этапов восстановления. Так, на рисунке (Рисунок 8.10) А представлено схематическое изображение группы нейронов (черные кружки), связанных сильными (толстые линии) и слабыми (тонкие линии) функциональными связями, серый овал – зона ишемии, внутри которой реализуется апоптоз нейронов. В – фрагмент сети, оставшийся после ишемии. На рис. С изображены нейроны, ранее не входившие в состав рассматриваемой сети (серые кружки), перераспределение прежних (тонкие и толстые линии) и образование новых функциональных связей (пунктир). В зависимости от сформированных у пациента, перенесшего ИИ, окружающих условий среды (включая реабилитационную программу, медикаментозную терапию, нутритивную поддержку и другие аспекты) может быть достигнуто: Д – полное восстановление исходных анатомических и функциональных связей для обеспечения утраченной в результате ишемии функции (результат достигается прежним образом); Е – замещение утраченной функции другой за счет образования нового рисунка нейрон-нейрональных и межсетевых взаимодействий (результат достигается по-другому). При отсутствии потребности в утраченной функции в новой среде, отсутствии ее «тренировки» происходит (F) утрата функции, распад исходной функциональной сети и невозможность образования новой (результат не достигается). Оставшиеся нейроны, не включенные в сеть и не получающие достаточную стимуляцию, устраняются в процессе апоптоза (черная точка). Такую позицию поддерживают результаты работ, об особенностях и динамической картине функциональной МРТ в процессе реабилитации пациентов с постинсультной афазией.

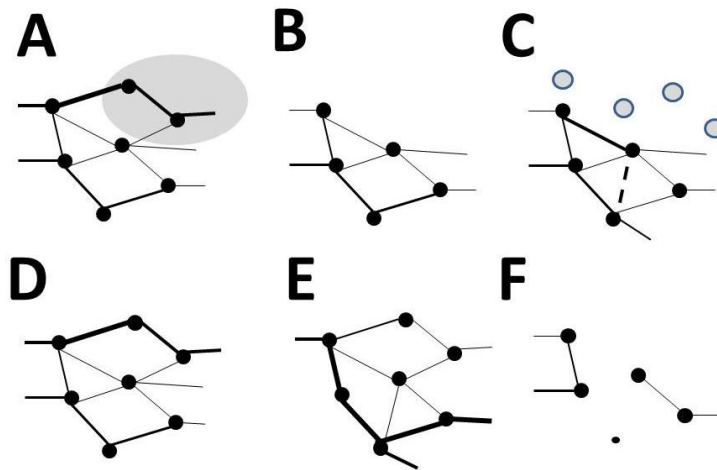


Рисунок 8.10 А – схематическое изображение группы нейронов (черные кружки), связанных сильными (толстые линии) и слабыми (тонкие линии) функциональными связями, серый овал – зона ишемии, внутри которой нейроны погибли. В – фрагмент сети, оставшийся после ишемии. С – нейроны, ранее не входившие в состав рассматриваемой сети (серые кружки), перераспределение (тонкие и толстые линии) и образование новых функциональных связей (пунктир). D – полное восстановление утраченной функции в результате формирования адекватного функционального запроса с восстановлением исходных анатомических и функциональных связей (результат достигается прежним образом). Е – замещение утраченной функции другой (результат достигается по-другому). F – утрата функции, распад исходной функциональной сети и невозможность образования новой (результат не достигается), оставшиеся нейроны, не включенные в сеть и не получающие достаточную стимуляцию, реализуют апоптоз (черная точка).

В острейшем периоде активация речевых зон в левом полушарии снижена, в течение последующих 12 суток происходит расширение речевой сети с вовлечением определенных зон контрлатерального полушария. Через год при положительной динамике восстановления преобладающая активность вновь возвращается в левое полушарие, а контрлатеральный гомолог перестает быть активным. Сходная картина наблюдается и при наличии пареза: сначала происходит увеличение объема сети с вовлечением областей контрлатерального полушария, затем по мере реабилитации

происходит восстановление доминирования активации областей ипсилатерального отдела и уменьшение общего объема сети и количества связей, связанного с выработкой наименее энерго- и ресурсозатратной организации нейронной сети [52, 455].

Вышеуказанные адаптивные изменения могут быть обеспечены при соблюдении баланса между процессами клеточной гибели и нейрогенеза. В ряде исследований показано, что мозг взрослого животного и человека обладает большим регенеративным потенциалом [209, 476, 571]. Показано, что в ткани головного мозга взрослого организма, в том числе млекопитающих, находятся клетки-предшественники нейронов, для которых свойственна индуцируемая повреждением пролиферация [594]. В экспериментальных работах показана активация нейрогенеза и миграция нейробластов после моделирования ИИ. Предполагается, что они участвуют в организации новых функциональных сетей в качестве их анатомического субстрата [228, 248, 506].

Существуют немногочисленные данные и о том, что с возрастом интенсивность индуцированного повреждением нейрогенеза снижается, однако, не установлено насколько именно этот факт ограничивает восстановление нервной ткани головного мозга после повреждения [209]. Установлено, что нейрогенез активируют физические упражнения, обогащение среды обитания, беременность, также активация нейрогенеза происходит после ишемического повреждения головного мозга. Состояние дистресса, нейровоспалительный процесс – подавляют [336].

Ряд экспериментальных работ раскрывает механизмы активации процессов нейрогенеза после ишемического повреждения головного мозга. Их результаты свидетельствуют о том, что апоптоз незрелых нейронов после транзиторной ишемии / реперфузии переднего мозга у мышей инициирует нейрогенез. Это может происходить через сигнальный путь киназы гликогенсинтазы-3 β , которая в свою очередь опосредуется микроглиальным инсулиноподобным фактором роста-1 (ИФР-1). Блокирование апоптоза

незрелых нейронных клеток, ранней активации микроглии или ИФР-1 приводят к ослаблению индуцированного ишемией нейрогенеза [340]. Индуцированный дифтерийным токсином апоптоз нейронов IV слоя соматосенсорной коры грызунов в раннем послеродовом периоде приводит к выраженной пролиферации клеток предшественников [473].

Показано вовлечение и каспаз, в том числе каспазы 3, в регуляцию высвобождения паракринных факторов, стимулирующих пролиферацию и регенерацию в соседних клетках. В настоящее время становится все более очевидным, что помимо роли в регуляции иммунной системы, активация каспаз также играет прямую роль в регенерации тканей, за счет стимуляции пролиферации и передачи сигналов к соседним клеткам. Тот факт, что каспаза 3 не только запускает элиминацию клеток, но также играет фундаментальную роль в передаче сигнала, был продемонстрирован в ряде исследований. Например, при реализации апоптоза каспаза 3 активирует протеинкиназы и фосфатазы [177]. Рядом исследователей апоптоз рассматривается как триггер ремоделирования ткани в ответ на повреждение. При этом активация каспаз определяется как ключевое требование для пролиферации и привлечения стволовых клеток. Каспазы запускают регенерацию ткани посредством воздействия на путь Wnt / β -катенин. Так, апоптотические клетки были идентифицированы как источник сигналов, направляющих клеточную регенерацию через секрецию Wnt3 и активацию пути Wnt / β -катенина в неапоптотических клетках. Путь Wnt / β -катенин критически участвует в эмбриональном развитии, а также пролиферации и регенерации клеток. После активации реализация этого пути приводит к накоплению β -катенина в цитоплазме. После его транслокации в ядро β -катенин активирует транскрипцию и экспрессию генов-мишеней, участвующих в клеточном цикле и пролиферации [203].

Таким образом, клетки, погибающие в результате апоптоза, могут паракринно стимулировать нейрогенез.

Показано, что апоптотические клетки активно взаимодействуют с окружающей средой на протяжении всего процесса гибели. Так, например, открыты каспаз-сопряженные сигнальные пути, приводящие к паракринному запуску пролиферации прогениторных клеток, что способствует регенерации поврежденных структур и восполнению потерянного в результате повреждения объема ткани. Такая компенсаторная пролиферация называется апоптоз-индуцированная пролиферация. Различные ее механизмы были обнаружены у разных биологических видов, от планарий до млекопитающих [262]. Апоптоз-индуцированная пролиферация нейронов охватывает множество сигнальных каскадов, посредством которых каспазы способствуют неавтономной пролиферации через секрецию митогенов, часто параллельно и независимо от конечного выполнения программы апоптотической гибели клеток. Эти зависимые от каспазы сигнальные пути играют решающую роль в заживлении и регенерации ран [261]. Эффекты апоптоз-индуцированной пролиферации, запускаемые каспазоактивными клетками одного типа, распространяются не только на соседние клетки того же типа, с иммунным промежуточным звеном или без него, но на все микроокружение. Так, на примере моделей опухолевого роста показано, что цитотоксическая терапия, нацеленная на опухолевые клетки, может парадоксальным образом управлять репопуляцией опухоли, опосредованной вышеописанными механизмами, а также может запускать неоваскуляризацию и ангиогенез через митогены, действующие на клетки эндотелия сосудов [252].

Традиционно, в патогенезе ИИ принято рассматривать апоптоз как патогенный механизм, т.к. в результате его реализации значительно возрастают потери нейронов в острейшем и последующих периодах. Достаточно большое количество научно-исследовательских проектов были направлены на подавление различных звеньев апоптозиндуцирующих сигнальных систем в остром периоде ИИ [584]. И хотя экспериментальные работы часто имели успех, в клинических исследованиях эти подходы

оказывались неэффективными [408]. В обновленных клинических рекомендациях по ведению пациентов в остром периоде ИИ, как одно из направлений нейропротекции выделено уменьшение выраженности «отдаленных последствий» ишемии, к которым отнесено и снижение активности процессов апоптоза, как лежащее в основе отсроченной смерти клеток нервной ткани [51, 121].

Однако, обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что апоптоз имеет значимую роль в формировании новых функциональных сетей и адаптивной перестройке существующих (Рисунок 8.11), так как:

- реализация апоптоза приводит к паракринному запуску пролиферации прогениторных клеток, что способствует регенерации поврежденных структур и восполнению потерянного в результате повреждения объема ткани;

- апоптоз является механизмом устранения функционально неактивных элементов синаптического аппарата, синапсов, нейронов, обеспечивая уменьшение общего объема функциональной сети и количества связей, связанного с выработкой наименее энерго- и ресурсозатратной ее организации.

Таким образом, апоптоз нейронов – неотъемлемый компонент восстановления утраченных после ИИ функций и в связи с этим должен рассматриваться не только как патогенный, но и как значимый саногенетический механизм, обеспечивающий адаптацию поврежденного мозга к изменению окружающей и внутренней среды. Апоптоз нейронов – это один из неспецифических механизмов адаптации к последствиям ишемии головного мозга.

Такой подход позволяет объяснить полученные в настоящей работе данные об увеличении доли нейронов, экспрессирующих реализующие апоптоз протеины, во всех исследованных зонах коры головного мозга. В том числе это наблюдается и в контрлатеральном полушарии по сравнению с группой контроля. Об этом же свидетельствует увеличение представленности

p53, каспаза 8, каспаза 3 позитивных клеток по мере приближения к ядру ишемии.



Рисунок 8.11 Возможные эффекты реализации апоптоза нейронов в патогенезе острого периода ишемического инсульта

Исходя из вышепредставленной концепции, опираясь лишь на факт экспрессии маркерных для апоптоза белков, невозможно ответить на вопрос о том, какую роль играет апоптоз в случае каждого конкретного нейрона и насколько полно он будет реализован. Результаты корреляционного анализа также поддерживают положение о том, что апоптоз является адаптивным процессом. В виду того, что не было выявлено достоверных связей между общей численной плотностью нейронов, поврежденных нейронов, и долей p53, каспаза 8, каспаза 3 позитивных нейронов, также в виду того, что распространенность и локализация экспрессирующих апоптозреализующие белки p53, каспаза 8, каспаза 3 позитивных нейронов в коре головного мозга не коррелировала с тяжестью неврологического дефицита (выраженного в

баллах по шкале NIHSS) ни для одной исследуемой зоны, патогенетическое значение апоптоза при ИИ не является однозначно патогенным.

Существует мнение, согласно которому каждая клетка при своём появлении запрограммирована на самоуничтожение путем апоптоза, а условием её жизни является блокирование этой суицидальной программы, осуществляемое постоянно, или с небольшими интервалами [604]. Это мнение достаточно убедительно подтверждается рядом работ об индукции в нейронах апоптоза при снижении интенсивности их стимуляции ростовыми факторами и другими сигналами [174, 308, 541]. Также снижение активации нейрона вследствие отсутствия функциональной нагрузки на него в нейронной сети приводит к снижению притока к нему энергоёмких и пластических субстратов в рамках нейроваскулярной единицы, что также вкупе с другими факторами может стать одной из причин инициации апоптоза [440]. Помимо этого на поверхности нейрона представлены различные виды рецепторов, взаимодействие которых со своими лигандами может приводить к активации апоптозиндуцирующих сигнальных путей [219, 224, 263]. В микроокружении нейронов постоянно присутствуют растворимые и мембранные формы лигандов, которые способны связываться с рецепторами смерти на их поверхности, создавая дополнительную напряженность выбора между процессами клеточной гибели и адаптации [409].

FasL – один из таких лигандов, он имеет цитоплазматический хвост с множеством уникальных мотивов рекрутирования [409]; наиболее известен своей способностью вызывать гибель клеток, экспрессирующих Fas. Но способность FasL вызывать гораздо более обширный спектр результатов продолжает исследоваться и приниматься [576]. В ткани головного мозга эти результаты включают воспаление, индукцию, активацию и подвижность Т-клеток, а также механизмы обеспечения нейропластичности, т.е. реализации адаптации [357, 495]. Однако противоположные функции ассоциированного с мембраной FasL (tmFasL) и С-концевого растворимого фрагмента FasL

(sFasL), высвобождаемого при расщеплении металлопротеиназой и путем альтернативного сплайсинга, не так хорошо документированы и поняты. И tmFasL, и sFasL могут образовывать тримеры, которые взаимодействуют с тримерным рецептором Fas, но только tmFasL может образовывать мультимерный комплекс в липидных рафтах, вызывая апоптоз и воспаление. При этом в ряде работ документирована антиапоптотическая и противовоспалительная активность sFasL, а также указана критическая регуляторная функция растворимой молекулы при различных формах офтальмопатологии. В экспериментальных работах показано, что устранение сайта расщепления металлопротеиназой и связанная с этим повышенная экспрессия tmFasL может серьезно усугубить степень воспаления и гибель клеток роговицы, а повышенная экспрессия sFasL наоборот - ограничивать. Однако протективная роль sFasL остается спорным вопросом [283]. У мышей, лишенных мембраносвязанного FasL, избыток sFasL индуцировал передачу сигналов, запускающих NF- κ B-зависимый воспалительный ответ [459]. В микроокружении опухоли sFasL подавлял провоспалительную активность tmFasL, а при отслоении сетчатки sFasL предотвращал гибель фоторецепторных клеток, запускаемую tmFasL. При этом гораздо больший объем клинических и экспериментальных работ показывает, что при различных заболеваниях центральной нервной системы концентрация sFasL в периферической крови повышается [200]. В ряде работ показана прямая корреляция между тяжестью проявлений этих заболеваний и концентрацией sFasL без указания на возможную причину такой закономерности [398, 551]. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа sFasL проявлял провоспалительный эффект, индуцировал повышение уровня мРНК каспазы 1, NF- κ B, ИЛ-1 β и экспрессии CD18, а также продукцию активных форм кислорода, авторами работы был сделан вывод о его триггерной роли в воспалительном ответе [411]. Другой группой ученых была выявлена связь между повышенными уровнями sFasL и индукцией аутореактивных антител при аутоиммунных заболеваниях и аллергии [149]. Концентрация растворимого лиганда Fas

была ассоциирована с прогнозом летального исхода у пациентов с сепсисом, а также с тяжелыми травматическими повреждениями головного мозга [398].

Активация рецепторов Fas может приводить не только к апоптозу и воспалению. В головном мозге, а также в культуре нейронов активация регулирующей апоптоз системы Fas среди прочих функций обладает также и нейропластическим потенциалом. Так, активация рецептора Fas приводит к индукции нейрогенеза и нейритогенеза [226]. В культуре нейронов активация рецептора Fas моноклональными антителами через связывание с доменом смерти DD приводила к формированию и ветвлению новых аксонов [659]. Описан Fas-индуцированный нейрогенез и Fas-индуцированный процесс роста и формирования структуры нейронов [511]. Существует антиапоптотический сигнальный путь, сопряженный с активацией Fas рецептора и приводящий к активации каскадов MAPK и NF κ B, что способствует выживанию клетки [189]. К семейству киназ MAP относятся в частности киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2). Их активация преимущественно связана с пролиферацией, дифференцировкой нейронов и спраутингом. В эксперименте при моделировании глобальной ишемии головного мозга у грызунов количество фосфорилированной ERK возрастало в его участках, устойчивых к действию гипоксии. Активация ERK1/2 преимущественно связана с выживанием нейронов при воздействии повреждающих стимулов, пролиферацией, дифференцировкой нейронов и спраутингом. ERK1/2 может индуцировать транскрипцию ранних генов *c-fos* [345].

Иммуногистохимическое исследование ткани коры головного мозга пациентов, которые умерли в остром периоде ИИ при ишемии в бассейне левой средней мозговой артерии, проведенное в рамках настоящей диссертационной работы, продемонстрировало, что закономерности представленности мембранных форм регулирующих апоптоз факторов на нейронах коры головного мозга зависят от пространственной локализации этих нейронов, а именно от их удаленности от ишемического очага.

Так, при иммуногистохимическом исследовании на срезах образцов коры головного мозга выявлено наличие разнонаправленных закономерностей экспрессии FasL и Fas на нейронах; снижение представленности Fas-позитивных нейронов и увеличение доли FasL-позитивных нейронов по мере удаления от ишемического очага.

Эти результаты свидетельствуют о том, что даже в интактных участках головного мозга нейроны имеют на своей поверхности регулирующие апоптоз рецепторы. Полученные в диссертационном исследовании данные подтверждают результаты ряда экспериментальных исследований [634].

Исходя из данных научных исследований нейропластический потенциал активации мембранных рецепторов Fas на поверхности нейронов может быть определен коэкспрессией с белками семейства Fas ингибирующих молекул, а именно FAIM2. Молекулу FAIM2 относят одновременно к двум семействам белков: семейству Fas ингибирующих молекул и семейству молекул - «спасателей» (Lfg, от англ. Life Guard - спасатели) [480]. Выявлено, что FAIM2 может ассоциироваться с рецептором Fas и предотвращать активацию инициатора каспазы-8, защищая нейроны от цитотоксического действия лигандов смерти. У мутантных мышей дефицит экспрессии FAIM2 соответствует повышению восприимчивости к комбинированной кислородно-глюкозной депривации нейронов *in vitro* и увеличению объема пораженной ткани после церебральной ишемии *in vivo* [494].

В настоящей работе были исследованы закономерности распределения нейронов, экспрессирующих Faim2 в головном мозге в острейшем периоде ИИ.

Наименьшая представленность FAIM2 позитивных нейрональных клеток была выявлена в 1-й зоне, что в сочетании с максимально выраженной в этой зоне экспрессией Fas увеличивает вероятность развития апоптотической гибели расположенных в ней нейронов при взаимодействии их мембранных рецепторов Fas со своим лигандом по сравнению с

образцами других зон и группы контроля. Максимальная представленность FAIM2 во второй зоне может быть объяснена большей, чем в третьей зоне, представленностью непосредственно самого рецептора Fas. Эти установленные закономерности могут быть связаны с обеспечением активации процессов, связанных с отбором и перераспределением нейронов во вновь образующиеся нейронные сети.

Согласно результатам настоящего исследования, а также работ других научно-исследовательских коллективов в клинике и эксперименте, увеличение концентрации растворимых рецепторов и лигандов систем Fas и TNF α в периферической крови при ишемическом повреждении головного мозга косвенно отражает увеличение их концентрации и эффектов в ткани головного мозга [407]. Так при корреляционном анализе данных, полученных в острейшем периоде ИИ, выявлены достоверные положительные связи между показателями концентрации sFasL в периферической крови и долей FasL-позитивных нейронов для всех исследованных зон.

Также нами была исследована экспрессия транскрипционного фактора протеина c-fos, киназ ERK1/2, которые способны индуцировать экспрессию генов c-Fos, а также мембранного рецептора Notch1, связанного с ними участием в общих внутриклеточных сигнальных системах и обладающего плеiotропными свойствами.

Накопленные в результате многочисленных экспериментальных работ факты демонстрируют то, что многие предполагаемые составляющие этих каскадов могут выполнять совершенно противоположные функции в модуляции гибели клеток в зависимости от контекста [580, 648]. Роль Notch в выживании и апоптозе клеток эволюционно закреплена. Одним из возможных механизмов Notch-опосредованного апоптоза является то, что Notch может усиливать экспрессию NF- κ B-регулируемых апоптотических генов. Хотя хорошо известно, что Notch и NF- κ B обладают способствующими выживанию и антиапоптотическими функциями во всех типах клеток, при длительной церебральной ишемии они играют пагубную

роль [201]. Возможными факторами, участвующими в формировании транскрипционного комплекса генов, способствующих выживанию и гибели клеток, являются JNK / c-Jun / AP1 и p53. В эксперименте с моделированием ишемии головного мозга у животных уровни JNK и расщепленной каспазы 3 снижались при ингибировании Notch [202]. Notch взаимодействует с p53 в нейрональных клетках, способствуя гибели клеток, индуцируя экспрессию апоптотических белков, таких как Puma, Noxa и Bad после ишемического инсульта [155]. После начала ишемии запускается активация p53, что обеспечивает регуляцию генов-мишеней, включая те, которые участвуют в клеточных стрессовых реакциях, репарации ДНК и апоптозе [258]. Регулируемая экспрессия проапоптотических белков включает, например, p53-модулятор апоптоза (Puma), Noxa, Bid, Bax которые играют ключевую роль в ряде вариантов апоптотической гибели нейронов [137]. Проапоптотический белок Bax активируется p53 в ответ на разрывы цепи ДНК, которые происходят во время ишемии, и опосредует индуцированный p53 апоптоз нейронов. Индуцированный глутаматом приток кальция и окислительный стресс в нейронах, подверженных ишемии, могут запускать транслокацию Bax на митохондриальную мембрану, что является ключевым событием в апоптозе [602]. Проапоптотические белки Bcl-2, Puma и Noxa, также являются генами-мишенями p53 и действуют, блокируя антиапоптотические белки семейства Bcl-2, расположенные в митохондриях, тем самым позволяя проапоптотическому Bax запускать проницаемость пор и высвобождение цитохрома C [496].

Хотя физиологическая роль Notch еще не установлена окончательно, чувствительность различных компонентов его внутриклеточных посредников к клеточному стрессу позволяет предположить, что он может также опосредовать адаптивные ответы нейронов и способствовать их выживанию во время фаз восстановления и повторного моделирования ИИ. Основываясь на опубликованных данных, активация путей Notch может влиять на ответы нейронов при повышении синаптической активности, влияя на их

энергетические потребности. С этой точки зрения, когда нейроны испытывают относительно умеренный биоэнергетический стресс, Notch активирует гены адаптивного стрессового ответа, кодирующие белки, которые способствуют выживанию и пластичности нейронов. Во время эмбриональных стадий развития центральной нервной системы передача сигналов Notch способствует пролиферации нервных клеток-предшественников, а снижение передачи сигналов Notch может запускать их дифференцировку в нейроны. Мыши с Notch-нокаутом умирают во время эмбрионального развития и имеют тяжелую корковую дисплазию, включающую преждевременную дифференцировку нейронов и истощение пула клеток-предшественников [391].

Передача сигналов Notch играет важную роль в синаптической пластичности [242]. Так показано, что перекрестное взаимодействие / конвергенция путей Notch и NF-κB участвует в синаптической пластичности гиппокампа [391]. Например, долговременная потенциация в синапсах CA1 поля гиппокампа нарушается у мышей с пониженными уровнями Notch, а применение Notch лиганда Jagged1 ее нормализует. Notch-мутантные мыши обнаруживают дефицит обучения и памяти, согласующиеся с нарушением синаптической пластичности гиппокампа. Отмечено, что условия микроокружения нейронов определяют путь реализации в них сигнала Notch. Так, плеiotропность внутриклеточных каскадов, включающих Notch1 заключается в обеспечении посредством их реализации устойчивости к стрессовому воздействию при активации на физиологических уровнях, а также в запуске гибели клеток при чрезмерной активации [148].

В нашем исследовании показано, что зона 1 – зона с максимальным количеством Notch1-позитивных нейронов, также является и зоной максимального количества нейронов, позитивных по маркерным для реализующих апоптоз клеток белкам (p53, каспаза 3, каспаза 8). Однако, достоверных прямых корреляций между этими показателями выявлено не было. Возможно, отсутствие достоверной корреляции этой направленности

связано с тем, что в отличие от многих других сигнальных путей, которые регулируют транскрипцию генов, сигнальный путь Notch к ядру не усиливается цитоплазматическими вторичными мессенджерами и киназами. Тем не менее вероятно, что из плейотропного спектра возможностей этого пути, реализуется в большей мере клеточная смерть. При удалении исследуемой зоны от очага ишемии доля Notch1-позитивных нейронов снижается, однако не столь выраженно, как позитивных по p53, каспазе 3 и каспазе 8 – это может свидетельствовать в пользу расширения спектра реализуемых за счет активации пути Notch эффектов [148].

В одной из экспериментальных работ вскоре после ишемического повреждения в нескольких областях гиппокампа была выявлена зависимость повышенной гибели клеток при экспрессии Notch, а также белка *c-fos*. *c-fos* относится к генам раннего реагирования, а его продукт белок *fos* является регулятором ответа на стрессовое изменение параметров микроокружения клетки [384, 434]. Инициирование транскрипции *c-fos* может рассматриваться в качестве эволюционно закреплённого универсального механизма ответа в том числе и на повреждение клетки [544]. Ответ этот может заключаться как в реализации адаптивных перестроек нейрона, так и клеточной гибели, может быть использован в качестве маркера активации нейронов [270]. Существует концепция о ключевой роли *c-fos* в обучении и памяти [332].

Наше исследование не подтвердило результатов указанной выше работы, демонстрировавшей связь между экспрессией Notch и *c-fos*: ни в одной исследованной зоне не выявлено достоверных корреляционных связей. При этом максимальная доля Notch1-позитивных нейронов была в первой зоне, а *c-fos* позитивных нейронов - во второй зоне. Выявлена достоверная положительная корреляционная связь доли *c-fos* и ERK1/2-позитивных нейронов, а максимальные значения долей нейронов с положительной иммуногистохимической реакцией против этих белков приходились на вторую зону.

Известно, что ERK1/2 индуцирует транскрипцию c-fos, а также фосфорилирование транскрипционного фактора p53 [419]. И если в плейотропном спектре эффектов p53 принято на первый план выводить апоптоз, то c-fos больше исследователей ассоциирует с активацией, адаптивными перестройками метаболизма и морфологических характеристик нейрона, связанных с его выживанием [270, 639]. Экспрессия c-fos, совместно с ERK1/2 в ряде исследований рассматривается в качестве маркера активации нейронов. Так, после болевой стимуляции и повреждения тканей динамика белка ERK гораздо информативнее и, по-видимому, является лучшим маркером центральной сенситизации [483]

Доля экспрессирующих ERK1/2 нейронов была минимальной в зоне с максимальным повреждением ткани головного мозга. Это сопровождалось максимальной экспрессией белков-индикаторов апоптотической активности, а также максимальной долей морфологически измененных нейронов и минимальной общей численной плотностью нейронов. В противоположном ишемическому очагу полушария (зоне 3), а также зоне 2 («зоне пенумбры»), где повреждение было менее выраженным, достоверных отличий экспрессии нейронами ERK1/2 по сравнению с контролем выявлено не было.

При обобщении результатов иммуногистохимического исследования ткани головного мозга пациентов, умерших после развития ИИ выявлен ряд закономерностей. В первой зоне наблюдалось максимальное значение доли Fas-позитивных нейронов (т.е. нейронов, несущих на своей поверхности рецепторы «запуска» программы клеточной гибели или адаптации). Максимальной в этой зоне была и доля нейронов с положительной иммуногистохимической реакцией белков реализации апоптоза (каспаза 3, каспаза 8, p53) а также Notch1, который можно также отнести в эту группу. Доля нейронов, экспрессирующих маркеры клеточной активации (c-fos, ERK1/2), а также молекулы «предотвращения апоптоза» (sFasL, FAIM2) была минимальной. Снижение уровня FAIM2, которое имеет место в рассматриваемой зоне, свидетельствует о снижении диапазона вариантов

возможных адаптивных решений. Это подтверждается максимальной представленностью нейронов, экспрессирующих белки-маркеры реализации апоптоза. При этом запрос на адаптацию (изменение среды микроокружения нейронов, влекущее за собой изменения клеточного метаболизма) в этой зоне максимален за счет снижения энерго- и субстратного обеспечения. При рассмотрении закономерностей функции системы Fas, регулирующей апоптоз и механизмы адаптации (учитывая увеличение концентрации sFasL в периферической крови, а также представленности в описываемой зоне Fas-позитивных нейронов и FasL-позитивных ненейрональных клеток) можно предположить увеличение вероятности лиганд-рецепторного взаимодействия. Это снижает стабильность системы на любом рассматриваемом уровне (нейрон, нейронная сеть, целостный организм, социум) и является частью запроса на адаптацию нейрона.

Для зоны 1 любое изменение состояния микроокружения нейрона (в том числе связанное с терапевтическими вмешательствами), приводящее к смещению равновесия внутриклеточных сигнальных систем, с большей вероятностью будет вызывать процесс клеточной гибели.

Таким образом, в первой зоне при ИИ повышается чувствительность нейронов к изменению факторов среды микроокружения и внутриклеточной среды и вероятность ответа развитием клеточной гибели. По-видимому, в этой зоне любые дополнительные изменения, в том числе являющиеся следствием терапевтического воздействия, увеличивая запрос на адаптацию в условиях энергетического и субстратного дефицита, будут приводить к реализации клеточной гибели в рамках некроз-апоптозного континуума (Рисунок 8.12).

Для второй зоны также закономерно «расшатывание» равновесия лиганд-рецепторных взаимодействий системы Fas, а также снижение стабильности системы. Это является результатом усиления атаки апоптозиндуцирующими лигандами (что отражается увеличением концентраций sFasL и sFas в периферической крови), увеличения

представленности FasL-позитивных ненейронных клеток и увеличения способности к ее восприятию за счет увеличения экспрессии трансмембранных рецепторов к ним.

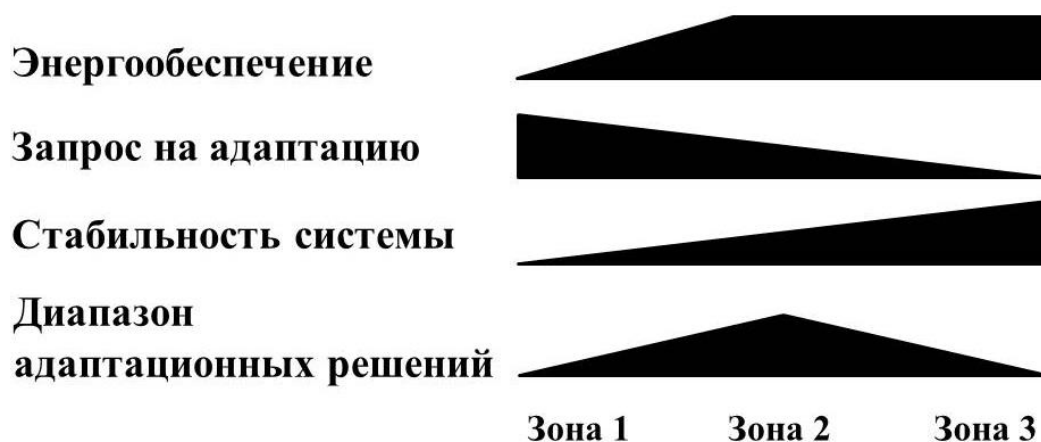


Рисунок 8.12 Диапазон адаптационных решений (ответов) и влияющие на него факторы в разных по удаленности от очага ишемии участках коры головного мозга

По сравнению с первой зоной запрос на адаптацию здесь меньше, но выше, чем в зоне 3 и в контрольных образцах. Максимальная по сравнению с другими зонами доля FAIM2-позитивных нейронов свидетельствует о максимальном по сравнению с другими зонами расширении диапазона возможных адаптационных решений в ответ на апоптозиндуцирующие стимулы. Об этом свидетельствует снижение доли каспазы 3, каспазы 8, p53, а также Notch1-позитивных нейронов и максимальная представленность нейронов, экспрессирующих маркеры клеточной активации (c-fos, ERK1/2).

Таким образом, во второй зоне на фоне снижения стабильности системы, повышения чувствительности нейронов к изменению факторов среды микроокружения и внутриклеточной среды происходит расширение диапазона адаптационных решений. Одновременно, по сравнению с первой зоной, снижается вероятность реализации клеточной гибели в ответ на изменения факторов среды микроокружения, влекущие изменения среды внутриклеточной.

Из вышенаписанного следует, что зона 2 («зона пенумбры») обладает высоким потенциалом для восстановления функциональных нейронных сетей. Однако, риски гибели нейронов при изменении условий микроокружения здесь также высокие.

В третьей по удаленности от некротического очага зоне диапазон возможных адаптационных решений ниже, чем во второй, о чем свидетельствует уменьшение представленности FAIM2-положительных нейронов. При этом здесь ниже и вероятность взаимодействия мембранных рецепторов смерти со своими лигандами за счет снижения доли Fas-позитивных нейронов, FasL-позитивных ненейрональных клеток и увеличения доли FasL-позитивных нейронов. Доля каспазы 3, каспазы 8, p53, а также Notch1-позитивных нейронов в этой зоне минимальная. Она стремится к контрольным значениям, хотя достоверно от них отличается. Это свидетельствует о снижении интенсивности реализации процесса апоптоза в этой зоне. Доля ERK1/2 позитивных нейронов не отличалась от контрольных значений. Однако, достоверно повышенная доля c-fos позитивных нейронов свидетельствует о повышенной активации зоны по сравнению с контролем.

Таким образом, в третьей зоне на фоне повышения стабильности системы за счет снижения чувствительности нейронов к изменению факторов микроокружения можно отметить снижение диапазона адаптационных решений по сравнению со второй зоной. При этом запрос на адаптацию ниже, равно как и вероятность реализации нейронами процессов клеточной гибели.

В связи с этим, есть основания считать, что терапевтические усилия целесообразно направлять на регулируемое снижение стабильности зоны 3 для расширения ее адаптационных возможностей, а также на поддержание оптимального энергетического и субстратного обеспечения зоны 2 и 3 для обеспечения функциональной активности нейронов в реализации механизмов нейропластичности.

Все плейотропные эффекты регулирующих апоптоз факторов, определяющие события в нейронах, можно свести к двум ключевым направлениям: адаптации к среде микроокружения или к реализации клеткой суицидальных программ (Рисунок 8.13).

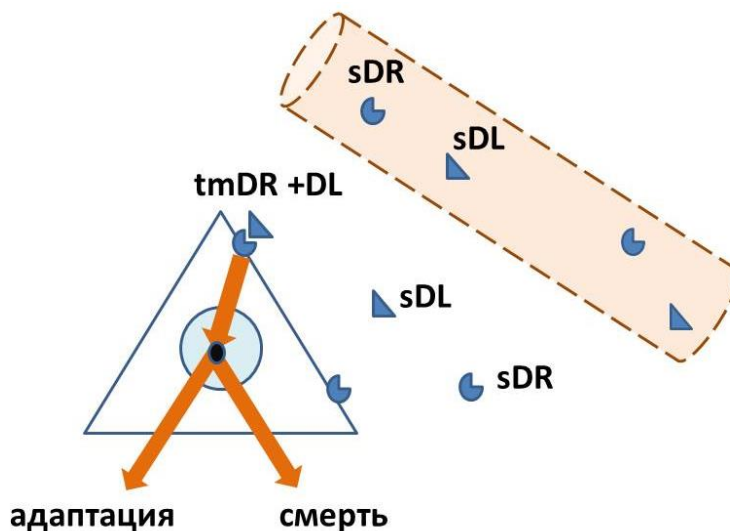


Рисунок 8.13 Схематическое изображение реализации эффектов взаимодействия регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов в нейроне (треугольник) и их возможная взаимосвязь с лиганд-рецепторными соотношениями периферической крови. Черная точка в середине нейрона – точка бифуркации, выбора итогового процесса для реализации (sDL – растворимый лиганд смерти; tmDR – трансмембранный рецептор смерти; sDR – растворимый рецептор смерти)

При этом если энергетическое и субстратное обеспечение нейронов выше критического уровня, то выполняется следующее условие: чем система стабильнее (зона 3), тем ниже ее адаптационный диапазон и ниже вероятность реализации механизмов клеточной гибели; чем система лабильнее (зона 2) - тем они выше. Выбор направления в вилке возможностей «адаптация или гибель» определяется суммарным сочетанием воздействия внешних и внутренних факторов (Рисунок 8.14). При этом внутренние факторы являются следствием воздействия внешних в предыдущем (Рисунок 8.15).

Таким образом, эффект и значение (роль) воздействия регулирующего апоптоз фактора не может быть определен вне контекста условий окружающей рассматриваемый объект среды и состояния среды внутренней. Оба показателя при этом должны рассматриваться в одном временном диапазоне.

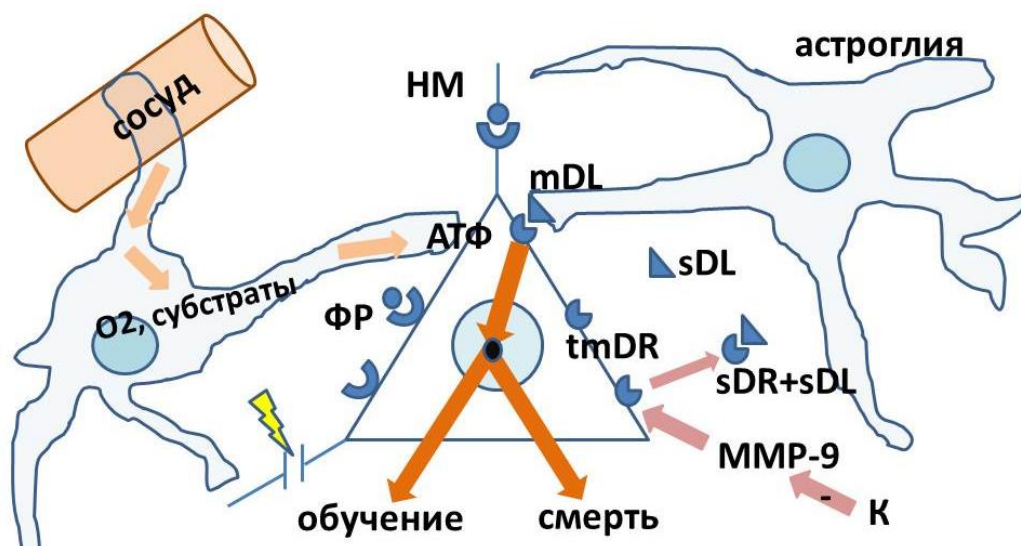


Рисунок 8.14 Схематическое изображение влияния различных факторов на определение преобладающего эффекта взаимодействия регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов в нейроне (треугольник). Черная точка в середине нейрона – точка бифуркации, выбора итогового процесса для реализации (НМ – нейромедиаторы; ФР – факторы роста; ММР – металлопротеиназа; К – кортизол; . – точка бифуркации, критическое низкое значение стабильности системы; mDL – мембранный лиганд смерти; sDL – растворимый лиганд смерти; tmDR – трансмембранный рецептор смерти; sDR – растворимый рецептор смерти)

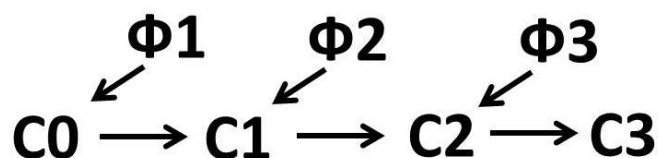


Рисунок 8.15 Схематичное изображение взаимовлияния системы (нейрона) и факторов окружающей его микросреды с течением времени. С – состояние системы, Ф – совокупность факторов окружающей систему среды, 0,1,2,3 – упорядоченная по времени последовательность

Изменение механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ направлено на снижение стабильности системы независимо от уровня рассмотрения (Рисунок 8.16).



Рисунок 8.16 Схема регуляции процесса апоптоза нейронов в головном мозге в остром периоде ИИ и значение состоявшегося апоптоза с учетом уровней рассмотрения системы (нейрон, нейронная сеть, целостный организм)

Основные факторы, определяющие микроокружение нейрона и его энергообеспечение в остром периоде ИИ – это время с момента развития сосудистой катастрофы, пространственная локализация нейрона относительно очага ишемии, включенность нейрона в функционально активные сети [182, 562].

Роль регулирующих апоптоз факторов в патогенезе острого периода ИИ также будет определяться тремя вышеуказанными факторами. Так, данные о концентрации растворимых регулирующих апоптоз факторов в

периферической крови пациентов в исходе острого периода ИИ, полученные в настоящем диссертационном исследовании, свидетельствуют об их различных патофизиологических эффектах у пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением острого периода ИИ, а также в одной и той же подгруппе на разных сроках от начала заболевания. Выявлено увеличение вероятности взаимодействия регулирующих апоптоз факторов с соответствующими трансмембранными рецепторами, расположенными в том числе и на поверхности нейронов, в исходе острого периода ИИ у пациентов с хорошим функциональным восстановлением и снижение этой вероятности у пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ. В отличие от этого, в острейшем периоде имеет место обратная картина: высокая концентрация регулирующих апоптоз факторов – неблагоприятный прогностический фактор и достоверный предиктор неблагоприятного исхода острого периода ИИ.

Одним из важнейших параметров, определяющих выбор системой дальнейшего пути развития является энергообеспечение. Этот фактор зависит от: 1) зоны расположения нейрона относительно очага ишемии; 2) времени, прошедшего с момента окклюзии магистральной артерии; 3) закономерностей реакции стресс-реализующей системы; и, исходя из нейроваскулярной теории, 4) сохранности функциональной сети. При этом необходимо учитывать, что нарушение нейроваскулярных взаимодействий может искажать адаптивный смысл переформирования функциональной нейронной сети и ее морфологического субстрата).

Усиление метаболической активности нейронов сопровождается увеличением количества нейроспецифической енолазы (NSE) в его цитоплазме. NSE – гликолитический фермент семейства енолаз, участвующий в предпоследнем этапе гликолиза – катализирует отщепление воды от 2-фосфоглицериновой кислоты. В результате образуется фосфоенолпируват – соединение, содержащее макроэргическую фосфатную связь. Иммуногистохимическая реакция для выявления NSE рядом авторов

рассматривается как индикатор нейрональной активности [65, 632]. При анализе изображений, полученных со срезов, на которых выявляли NSE, отмечено, что отдельные нейроны имели значительно более яркую иммуногистохимическую реакцию. Возможности применяемого в настоящей работе иммуногистохимического метода не предполагали количественного определения фермента. Однако, значительный градиент интенсивности иммуногистохимической реакции дает основания судить о более интенсивной экспрессии NSE в отдельных нервных клетках по сравнению с остальными. Указанный феномен имел место в зонах 2 и 3 мозга, то есть отмечался как на стороне поражения, так и в контрлатеральном полушарии. При этом в группе контроля столь выраженной дифференциации по интенсивности экспрессии NSE не отмечалось. В зоне 1 интенсивность реакции NSE была тем меньше, чем ближе к очагу некроза находились нейроны. Учитывая вышеприведенные сведения, есть основания предполагать, что выявленная высокая функциональная активность отдельных нейронов свидетельствует об адаптивной перестройке морфологического субстрата функциональной нейронной сети, поврежденной в результате ИИ. При сопоставлении срезов менее интенсивная реакция NSE отмечена в p53, каспаза 3 и каспаза 8 позитивных нейронах. И, наоборот, в нейронах с более интенсивной реакцией NSE исследуемые апоптозреализующие белки положительную реакцию не давали. Возможно, экспрессия p53, каспазы 3 и каспазы 8 в отдельных нейронах зоны 2 и 3 свидетельствует о том, что эти нейроны в результате адаптации функциональной сети и перестройке ее морфологического субстрата оказались не задействованными во вновь образованных межнейронных связях. В отсутствии необходимого для поддержания жизни объема стимуляции в них преобладали реализующие апоптоз сигнальные пути. Возможно, факт усиленной экспрессии индикаторного белка нейрональной активности NSE свидетельствует в пользу участия нейронов во вновь сформированных сетевых взаимодействиях.

При формировании очага ИИ метаболизм нейронов зависит от их локализации в мозге. Так, в острейшем периоде ИИ формируется очаг с критически низким уровнем субстратного и энергетического обеспечения, происходит потеря структурной целостности нервной ткани, на месте которого формируется некротическое ядро [636], а в отдаленном периоде ИИ - глиальный рубец [546]. В участках, где в результате сосудистой катастрофы произошло снижение уровня церебрального кровотока на 80-76% уровни АТФ стремительно падают. Это приводит к массовому высвобождению внутриклеточного калия, аноксической деполяризации мембран, внутриклеточному накоплению натрия и воды, развитию цитотоксического отека. Без своевременной реваскуляризации (спонтанной или медикаментозной) эта ситуация приводит к коллапсу, последующему снижению локального церебрального кровенаполнения практически до нуля и, в конечном итоге, к необратимому повреждению ткани [568]. При сохранности кровотока на 60-75% нервные клетки способны поддерживать свою жизнеспособность, однако утрачивают функциональную активность, в том числе электрическую. Это - зона ишемической полутени, занимаемый ей объем нервной ткани зависит от времени и именно она является целью реперфузионной терапии, а также основной мишенью изучения действия нейропротективной эффективности потенциально лекарственных субстанций [372]. Для уровня кровенаполнения выше 75% характерны лишь селективные потери нейронов в основном в результате апоптоза [263, 372].

От уровня энергообеспечения зависят механизмы включения нейронов в функционально активные сети. С клинической точки зрения эти механизмы определяют полноту и скорость ответа на оптимальные реабилитационные мероприятия пациента в острейшем и остром периодах (Рисунок 8.17). Так, при достаточном обеспечении макроэргами наиболее вероятно, что гибели нейронов не происходит: имеет место прунинг («обрезка» отдельных синапсов) и спраутинг с образованием новых синаптических связей. При дефиците макроэргов, еще достаточном для реализации апоптоза

энергообеспечении, происходит замещение утраченного нейрона клетками предшественниками, которые, обучаясь и встраиваясь в существующую сеть нейронов, обеспечивают восстановление утраченной пациентом функции. При абсолютном дефиците макроэргов из вариантов клеточной гибели имеет место некроз. Функционирующая ткань замещается нефункционирующей. Исходная и утраченная в результате ИИ способность пациента не может быть восстановлена, а лишь замещена. Ответ на реабилитационные мероприятия осложнен [403, 452, 626]. Все вышеуказанные процессы могут быть инициированы в результате связывания рецепторов смерти (в том числе Fas) со своими лигандами [279, 344, 597].

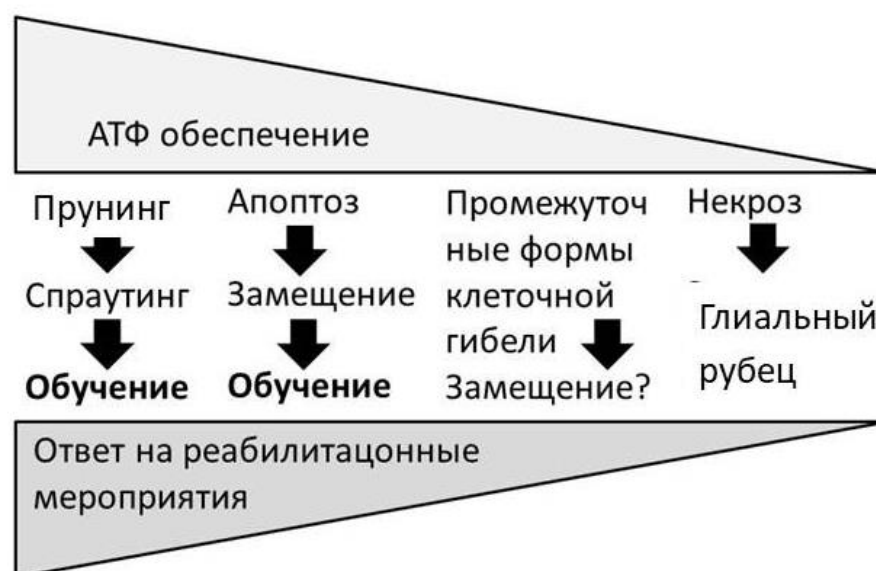


Рисунок 8.17 Влияние уровня энергообеспечения нейронов головного мозга после ИИ на возможные варианты реализации апоптоза и ответ пациента на реабилитационные мероприятия

Как отмечено выше, в условиях ишемии головного мозга происходит адаптивная перестройка и перераспределение функциональных нейронных сетей за счет изменения морфологического субстрата [14, 60, 172, 188, 233, 478]. Одним из ключевых процессов, обеспечивающих эти перестройки, является апоптоз. Однако оценить роль этих процессов в целом и значимость апоптоза каждого конкретного нейрона (или его части) при восстановлении

пациента после перенесенного ИИ является трудной задачей. Для ее решения необходимо выбрать уровень организации живой материи (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, организм, социум – Рисунок 8.17) и определить критерии адаптивности ответа на выбранном уровне. Так, клинически оцениваемый эффект этих процессов – степень восстановления или качество замещения утраченных пациентом в результате повреждения участка головного мозга функциональных возможностей. Например, возможность и качество самостоятельного передвижения в случае развития нижней гемиплегии. Для комплексной оценки сферы самообслуживания и мобильности пациента разработаны различные шкалы и индексы, позволяющие быстро оценить степень адаптации пациента на уровне социума, так как направлены в основном на выявление объема необходимой социальной помощи. В настоящей работе использовались общепринятые для такой цели индекс Бартел и шкала Рэнкина. При оценке нейропротекторной эффективности фармакологических субстанций оценка происходит на уровне клетки, а факт апоптоза нейрона считается негативным событием как в моделях *in vitro*, так и *in vivo* [1, 41, 118, 128, 215, 498, 603].

Однако, учитывая, что апоптоз, как было обосновано выше, является адаптивным процессом, как неотъемлемый компонент восстановления утраченных после ИИ функций, роль апоптоза конкретного нейрона при рассмотрении на разных уровнях может кординально меняться (Рисунок 8.18). Например, на уровне клетки сохранение нейрона может рассматриваться позитивным событием. Однако при этом он может обеспечивать целостность нейронной сети, отвечающей за неоптимальное с точки зрения социума восстановление функции (например, привыканию к помощи сиделки, вместо формирования навыков самообслуживания). Поддержание стабильности системы на таком уровне может привести к отсутствию прогресса в восстановлении и снижению эффективности реабилитационных мероприятий. Поэтому такая оценка – трудная задача. Она может быть решена в будущем с использованием высокоточных

нейровизуализационных технологий высокого разрешения и искусственного интеллекта. Это понадобится для картирования и прогнозирования межнейронных взаимодействий и вариантов их перераспределения для построения оптимальной модели адаптации и моделирования ее морфологического субстрата. Так же потребуется разработка методов регистрации эффекторных влияний, возможности которой должны быть шире, чем только регистрация мышечной активности.



Рисунок 8.18 Схематическое изображение влияния уровня рассмотрения (нейрон, нейронная сеть, коннектом, целостный организм, социум) на значение апоптоза одного нейрона в головном мозге при его ишемическом повреждении (крестиком обозначен погибший нейрон, треугольниками – функционирующие нейроны, кругом – функциональная нейронная сеть)

Таким образом, роль апоптоза в остром периоде ИИ определяется критерием адаптивности ответа рассматриваемой системы и уровнем этого рассмотрения.

Исходя из вышепредставленных положений может быть сформирован терапевтический подход с целью формирования оптимальных закономерностей изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта. Он должен включать непрерывный

многонаправленный тренинг в типичных для пациента условиях с выполнением типичных для него социальных задач на фоне адекватной субстратной и энергетической поддержки формирования и функционирования морфологического субстрата вновь образующихся функциональных нейронных сетей.

В качестве примера можно привести методику принудительной двигательной терапии (англ. Constraint-Induced Movement therapy, CIMT) [272]. Эта методика первоначально была разработана для лечения гемипареза умеренной степени, однако по результатам последних клинических исследований рекомендована также и при выраженной его степени [586]. Она заключается в интенсивной тренировке пораженной руки при фиксировании здоровой [361]. Если в запрос на адаптацию будет входить просто получение результата (например налить воду из графина в стакан), то скорее всего пациент будет использовать для этого здоровую руку или сиделку: функция не будет восстанавливаться, она будет замещаться. Однако, при фиксации здоровой руки и четком формулировании задачи запрос на адаптацию будет соответствовать восстановлению движений в паретичной конечности [616]. Интенсифицировать процессы нейропластичности, соответствующие сформированному запросу на адаптацию (условия в стационаре, программа реабилитации, фармакологическая поддержка), вероятно, возможно при помощи неинвазивной стимуляции головного мозга постоянным током (транскраниальная электростимуляция) или магнитным полем (транскраниальная магнитная стимуляция, ТМС). В клинических и экспериментальных исследованиях показано, что использование указанных методик улучшает восстановление моторных и речевых функций после ИИ. При этом картина фМРТ в целом соответствует таковой при восстановлении функции без использования стимуляции, но сроки и качество восстановления улучшаются [255, 298, 301]. В экспериментах на грызунах показано, что целенаправленная сенсорная депривация посредством обрезания усов у мышей после индукции ишемического инсульта в соматосенсорной коре,

представляющей переднюю лапу, улучшает сенсомоторное восстановление. Показано, что эта дополнительная травматизация приводит к ускорению формирования и перераспределения активности нейронных сетей. Доказано также участие в этих процессах белка Arc, связанного с обеспечением синаптической пластичности [356]. Вероятно, целенаправленная дозированная сенсорная депривация может быть эффективной методикой в реабилитации пациентов с поражением центральной нервной системы. При этом вне моделирования ишемии, обонятельная бульбэктомия является моделью клеточной дисфункции в гиппокампе и вызывает поведенческий дефицит, подобный клинической депрессии. Антидепрессанты уменьшают нейровоспаление в гиппокампе у крыс с ольфакторной бульбэктомией и улучшают нейрогенез в зубчатой извилине [436]. Однако, существует и противоположная точка зрения о неадекватности такой модели для исследования депрессии [638].

Между окружающей средой (клинические условия, реабилитационные программы, фармакологическая поддержка) и микроокружением нейронов существуют ряд «барьеров», выступающих в роли своеобразных буферных систем, эволюционно сформированных для оптимизации энергозатрат, силы и скорости ответа. Одним из таких мощнейших «барьеров» является стресс-реализующая система, функция которой сводится, помимо прочего, к регуляции перераспределения энергообеспечения и энергопотребления в организме [475, 513]. Исходя из выдвинутого в настоящей работе предположения о том, что закономерностями ответа стресс-реализующей системы определяется полнота и содержание молекулярных механизмов адаптации и клеточной смерти нейронов в остром периоде ИИ, был проведен корреляционный анализ результатов иммуногистохимического исследования и значений лабораторных показателей стресс-реализующей системы, полученных при поступлении впоследствии погибших пациентов в стационар. Были выявлены достоверные корреляционные связи, свидетельствующие в пользу стабилизирующего систему и препятствующего

реализации апоптоза действия эффекторов симпато-адреналовой системы (преимущественно адреналина). С показателем концентрации кортизола было выявлено максимальное количество достоверных корреляционных связей, свидетельствующих в пользу его проапоптотических свойств. Так, повышение уровня кортизола в периферической крови ассоциировано с уменьшением доли FAIM2-положительных нейронов во 2-ой зоне. Это, предположительно, снижает ее потенциал для восстановления функциональных нейронных сетей и повышает риски гибели нейронов при активации рецепторов смерти. Также концентрация кортизола ассоциирована с долей каспазы 3 позитивных нейронов, и обратно коррелировала с ОЧП нейронов во 2-ой и 3-ей зонах. Однако, на ряд параметров концентрация эффекторов стресс-реализующей системы в периферической крови влияния не оказывала (доля p53, каспазы 8, ERK1/2, Fas -позитивных нейронов).

При проведении лабораторно-морфологических параллелей в работе выявлено, что повышение концентрации кортизола соответствовало сужению диапазона адаптивных возможностей с увеличением вероятности реализации апоптоза нейронов в головном мозге. При проведении клинко-лабораторных параллелей показано, что концентрация кортизола в периферической крови пациентов после ИИ в первые сутки оказывала достоверное влияние на клинический исход его острого периода. Также уровень кортизола достоверно коррелировал с количеством баллов по шкале тревоги и депрессии в последующие дни острого периода. Исходя из таких результатов сделан вывод о возможном влиянии депрессии на восстановление утраченных навыков и обеспечивающих их реализацию нейронных сетей в остром периоде ИИ.

Это предположение подтверждают результаты других клинических и экспериментальных исследований. Так, депрессия сочетается с повышенным уровнем кортизола периферической крови, преимущественной активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в ответ на стрессовую провокацию, а также преобладанием пассивных копинг-стратегий,

предполагающих интрапсихотические механизмы преодоления и снижение эффективности клинических и реабилитационных мероприятий [184, 280, 414, 447, 577, 617]. В клинической части настоящего исследования показано, что концентрация кортизола достоверно коррелировала с баллом по шкале тревоги и депрессии, являясь при этом прогностическим маркером исхода острого периода ИИ. У 42% в исходе острого периода ИИ балл по шкале тревоги и депрессии соответствовал депрессивному расстройству, что соответствует данным других зарубежных и отечественных исследовательских групп [160, 187, 218, 418, 466, 515]. В острейшем периоде ИИ степень активации стресс-реализующих механизмов была пропорциональна степени тяжести неврологического дефицита, который определен объемом пораженной ткани головного мозга. После завершения этого периода прослеживалось формирование закономерностей в динамике содержания стресс-маркеров в зависимости от «качества» восстановления. Так, умеренное повышение концентрации кортизола в периферической крови после ИИ необходимо как для непосредственной стимуляции процессов нейропластичности, так и для их метаболического и субстратного обеспечения и имеет адаптивное значение, что характерно для пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ. Чрезмерное ее увеличение имеет отрицательный патофизиологический эффект, ведет к дезадаптации и характерно для пациентов с неблагоприятным течением ИИ.

В исследованиях, посвященных изучению апоптоза при депрессии, выявлено повышение активности экспрессии различных его маркерных белков [192, 470, 521, 649].

Вероятно, преобладание эффектов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в остром периоде ИИ способствует ограничению диапазона адаптивных возможностей на всех возможных уровнях рассмотрения системы и ограничение это реализуется посредством общих с патогенезом депрессии механизмов. Закономерности реакции стресс-

реализующих систем имеют большое значение в выборе направления «адаптация или смерть» (Рисунок 8.19).

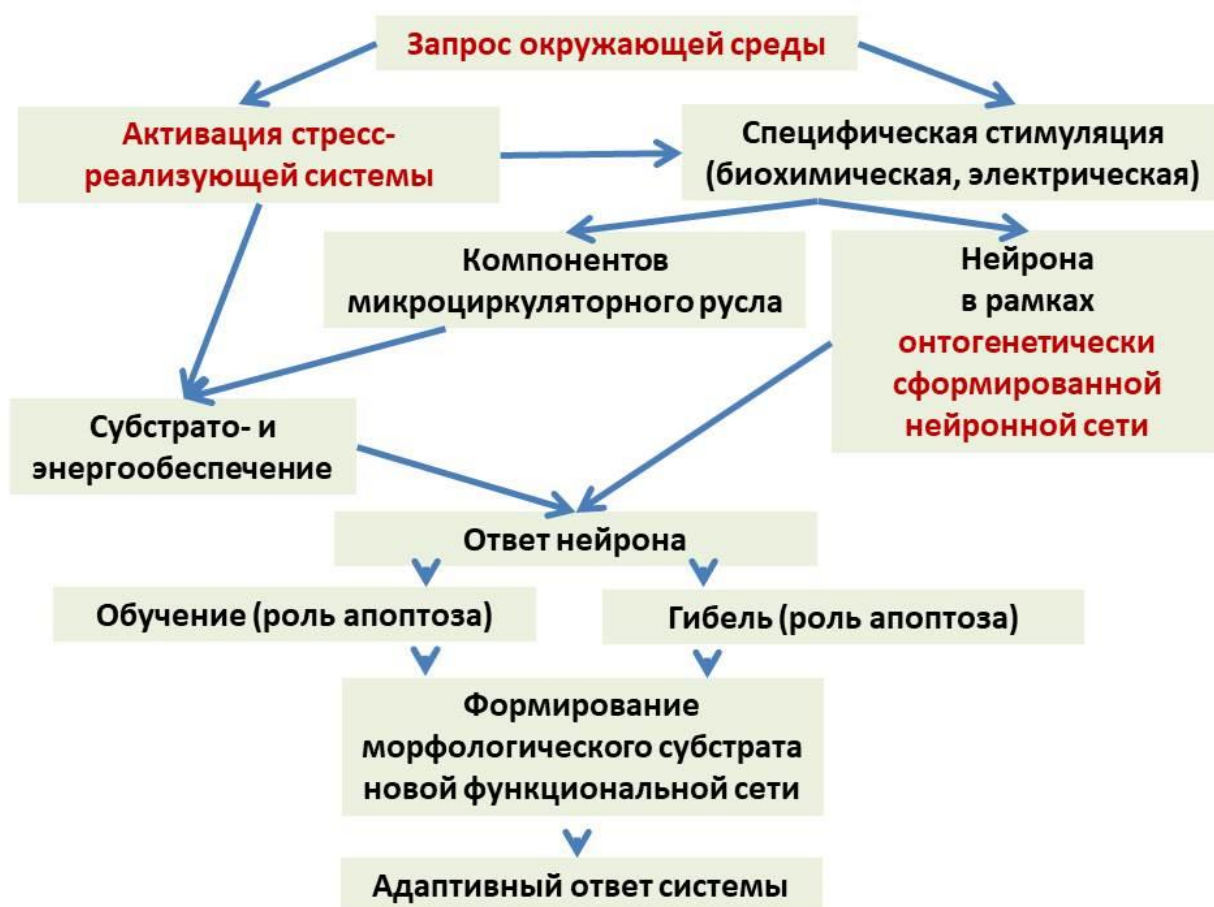


Рисунок 8.19 Схема влияния изменения совокупности факторов окружения пациента (обозначена как «запрос окружающей среды», также может быть обозначена как «реабилитационная среда») на выбор преобладающего процесса в отдельно рассматриваемом нейроне головного мозга в случае адаптивного ответа целостной организма (пациента)

Поэтому при формировании клинической лечебной тактики необходимо учитывать и при необходимости корректировать закономерности функционирования стресс-реализующей системы при помощи методов фармакологической поддержки, психотерапевтического и психологического воздействия, применения методик биологической обратной связи. Так, применение антидепрессантов в остром периоде ИИ у пациентов с клинически

выраженной депрессией положительно влияет на его исход и результаты реабилитации в отсроченные периоды [37, 210, 381, 438, 467, 552, 641]. Показано, что применение антидепрессантов приводит к модификации ответа стресс-реализующей системы на стрессорное воздействие [139, 259, 353, 479, 527].

Известно, что при пассивных копинг-стратегиях ответ на стрессорное воздействие сопровождается активацией преимущественно гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы с преобладанием эффектов кортизола, а при активных – симпато-адреналовой [322, 337, 569, 573, 575, 592]. Психотерапевтическое и психологическое воздействие, направленное на формирование адекватной внутренней картины болезни и трансформации пассивных копинг-стратегий в активные, приводит также к изменению закономерностей ответа стресс-реализующей системы. Показана эффективность таких методов для увеличения комплаентности пациентов, повышения эффективности реабилитационных мероприятий, улучшения качества жизни, уменьшения степени ограничения самообслуживания [305, 499, 552, 588].

Непрерывный мониторинг физиологической функции за счет визуального отражения его результатов позволяет натренировать пациента осознанно ей управлять в режиме реального времени [614]. Этот метод достаточно эффективно используется в комплексном лечении депрессии и тревожных состояний, а также при реабилитации пациентов с повреждением нервной системы [7, 62, 68, 355, 552, 611]. Также его можно использовать для эффективного обучения пациентов методикам саморелаксации, что способствует активизации нейропластических процессов в головном мозге [3, 5, 130, 311, 387, 432, 628].

Подводя итог, при проведении комплексного исследования коры головного мозга пациентов, которые умерли в результате ИИ в бассейне левой средней мозговой артерии в острейшем его периоде, и сопоставлении

этих данных с результатами клинического исследования были выявлены закономерности, позволяющие сделать следующие выводы.

Суть морфологических изменений в коре головного мозга после ИИ зависит от локализации нейрона относительно очага ишемии (зоны взятия материала для исследования). Это связано преимущественно с уровнем его обеспечения энергией и субстратами, определяющим выбор между реализацией механизмов адаптации или клеточной гибели нейронов.

Все плеiotропные эффекты регулирующих апоптоз факторов, определяющие события в нейронах, можно свести к двум ключевым направлениям: адаптация к среде микроокружения или реализация клеткой суицидальных программ (Рисунок 8.20).



Рисунок 8.20 Схема влияния совокупности факторов микроокружения (серая стрелочка) нейрона (треугольник) на выбор реализуемых в нем регулирующих апоптоз сигнальных каскадов (черные стрелочки)

Апоптоз нейронов – это один из неспецифических механизмов адаптации к последствиям ишемии головного мозга. Он является неотъемлемым компонентом восстановления утраченных после ИИ функций и должен рассматриваться не только как компонент патогенеза, но и как значимый саногенетический механизм, обеспечивающий адаптацию организма к изменению окружающей и внутренней среды. Роль апоптоза зависит от критериев адаптивности ответа и от уровня рассмотрения системы

(синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм) (Рисунок 8.21).

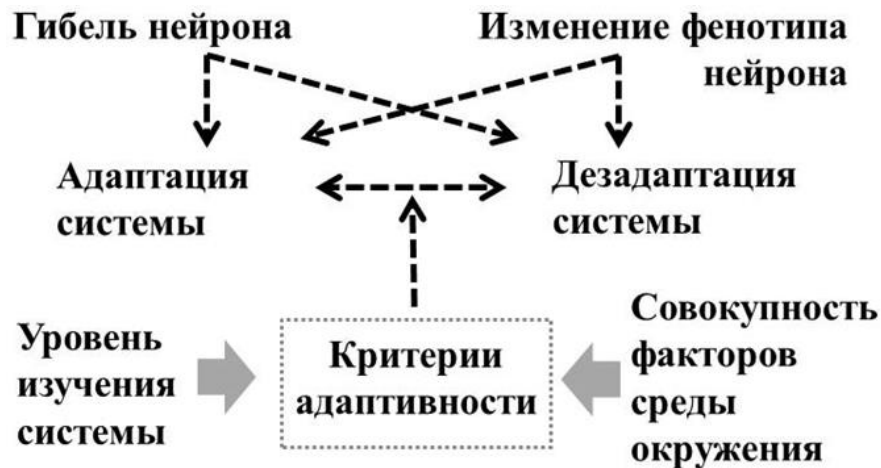


Рисунок 8.21 Схема влияния субъективных факторов, формируемых врачом или исследователем, на значение результата реализации механизмов апоптоза нейронов коры головного мозга пациентов в остром периоде ИИ

Эффект воздействия регулирующего апоптоз фактора на нейрон должен оцениваться с учетом условий окружающей его микросреды.

Отсутствие адекватного энерго- и субстратного обеспечения нейрона приводит к перестройке функциональных нейронных сетей, а также к формированию их наиболее эргономичных морфологических субстратов для реализации адаптивных реакций на конкретные изменения среды.

Изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта вызывают снижение стабильности системы на всех уровнях рассмотрения.

Недостаточность церебрального кровотока должна рассматриваться как особая типовая форма патологии, возникающая в результате несоответствия кровоснабжения нейронов и глиальных клеток нейроваскулярной единицы их потребностям, приводящее к снижению функциональной активности активирующих их нейронных сетей. Апоптоз при ИИ может играть как патогенную, так и адаптивную роль.

Изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта в большой мере определяют его исход. Разработка медикаментозных и немедикаментозных методов управления механизмами апоптоза - важная клиническая задача. Подходы к ее решению определены в настоящей работе и могут быть внедрены в современную неврологическую практику. Это позволит значительно улучшить социальный и экономический результат ранней реабилитации пациентов с ишемическим инсультом [98, 104].

Заключение

В результате развития ИИ повреждение и гибель компонентов ткани головного мозга приводит к значительным изменениям онтогенетически сформированных функциональных нейронных сетей, в результате чего у пациента формируется неврологический дефект (сенсорный, моторный, когнитивный, эмоциональный или их совокупность) [138, 140, 277]. Это приводит к инвалидизации, социальной дезадаптации, снижению качества жизни пациентов с ИИ [121, 122, 133, 439]. Одним из основных механизмов гибели нейронов при развитии ИИ считается апоптоз [514, 581]. С позиции клинической неврологии апоптоз традиционно воспринимался как механизм уменьшения количества потенциально функционально активных нейронов, поэтому блокирование механизмов реализации апоптоза расценивалось, как перспективный механизм нейропротекции [195, 302, 561, 624, 637]. В этой связи в экспериментальных и клинических исследованиях «антиапоптозный» эффект терапевтических воздействий традиционно трактуется как положительный [42, 119, 120, 129, 208, 219, 536, 565, 606]. Однако, это не вполне соответствует общебиологической роли апоптоза, как основного регулятора клеточного состава тканей организма [24, 39, 126, 127, 217, 246, 542, 547]. Показано значение апоптоза для реализации нейропластичности в норме. Апоптоз играет важную роль в обеспечении оптимальной структуры анатомического субстрата функциональной нейронной сети [343, 537]. Выявленное противоречие в трактовке с позиций фундаментальной и клинической медицины роли апоптоза в патогенезе ишемического инсульта долгое время являлось актуальной проблемой, отсутствие решения которой тормозило научный прогресс и ограничивало практические лечебно-профилактические мероприятия. Так, например, на настоящий момент, несмотря на большие усилия и экономические затраты в мире, не существует эффективных с позиции доказательной медицины нейропротекторов [370].

Предложенный в этой работе на основании самостоятельно полученного фактического материала подход к представлению об апоптозе

как о неспецифическом механизме адаптации к последствиям ишемического повреждения головного мозга разрешает это противоречие. Апоптоз нейрона может быть звеном патогенеза и приводить к усугублению тяжести состояния пациента. Одновременно апоптоз может быть и адаптивным механизмом реализации нейропластичности. Клинически активация и нарастание масштаба апоптоза нейронов может приводить как к усугублению тяжести состояния пациента, так и к восстановлению полученного после ИИ неврологического дефекта. Для трактовки значения (роли) апоптоза отдельного нейрона или его части необходимо определение уровня рассмотрения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социальная адаптация пациента) и критериев адаптивности ответа этой системы, соответствующих выбранному уровню.

В рамках настоящей работы были исследованы закономерности динамики концентрации регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNF α и получены результаты противоречащие изначально принятой за рабочую гипотезу об апоптозе нейронов как негативном событии в остром периоде ИИ. В результате статистической обработки данных удалось выявить уровень неврологического дефекта в исходе острого периода ИИ в баллах по шкале NIHSS, выше и ниже значения которого изучаемые закономерности имели достоверные различия (граничное значение составило 5 баллов). На основании чего в группе перенесших ИИ пациентов были сформированы две подгруппы: пациенты с благоприятным исходом и пациенты с неблагоприятным исходом острого периода ИИ. В результате, впервые было выявлено, что повышение концентрации одних и тех же регулирующих апоптоз молекул на 1-е сутки ИИ ассоциировано с неблагоприятным, а на 21-е сутки - с благоприятным исходом острого периода ИИ. Это свидетельствовало о различных патофизиологических эффектах вышеуказанных факторов у пациентов с благоприятным и неблагоприятным течением острого периода ИИ, а также в одной и той же подгруппе на разных

сроках от начала заболевания и требовало дальнейшего изучения и формулирования новой представленной выше рабочей гипотезы.

Патофизиологическая роль апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNF α зависит от времени, прошедшего с момента сосудистой катастрофы. В острейшем периоде ИИ она заключается в первую очередь в регуляции интенсивности системного воспалительного ответа на ишемическое повреждение ткани головного мозга, которая связана с тяжестью неврологического дефицита и влияет на уровень восстановления пациентов в исходе острого периода ИИ.

В остром периоде ИИ реализация адаптивных процессов в нервной ткани головного мозга ведущих к восстановлению или адекватному замещению утраченных функций тесно связана с закономерностями специфического иммунного ответа, в реализации которого значимую роль имеют регулирующие апоптоз факторы систем Fas и TNF α . От соотношений гуморальных эффекторов апоптозиндуцирующих лиганд-рецепторных систем в острейшем периоде ИИ зависит характер дальнейшего пролонгированного во времени специфического иммунного ответа на стимуляцию забарьерными мозгоспецифическими антигенами.

Вероятно, перспективной мишенью для терапевтического воздействия в остром периоде ИИ является формирование адекватного воспалительного ответа. В приоритете должно быть не подавление системной воспалительной реакции, а организация условий для развития характерной для группы пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ динамики.

Как показали результаты диссертационного исследования и анализ литературы, инициация сигнальных путей апоптоза в нейроне и его реализация не должны рассматриваться как облигатно негативное событие, так как они могут иметь адаптивное значение для эргономики системы более высокого уровня организации (например, нейронной сети или целостного организма). Так же взаимодействие регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNF α со своими рецепторами на нейронах и других клетках может

приводить к индукции широкого спектра плеiotропных эффектов, которые можно свести к двум ключевым направлениям: реализация клеткой суицидальных программ и адаптация клетки к среде микроокружения. Был сделан вывод, что эффект воздействия регулирующих апоптоз факторов на нейрон не может быть предопределен вне контекста условий окружающей его микросреды, а эффект изменения концентрации регулирующих апоптоз факторов не может трактоваться вне других клинических параметров.

Учитывая, что объем энергетического и субстратного обеспечения является одним из ключевых факторов, определяющих функциональную активность нейронов [144, 266, 454, 482, 483], было сделано предположение о том, что закономерности ответа стресс-реализующей системы, эволюционно сформированной для оптимизации энергозатрат, силы и скорости ответа на изменения окружающей среды, могут значительно модулировать эффект регулирующих апоптоз факторов.

При исследовании закономерностей динамики концентрации гормонов симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем организма (АКТГ, кортизол, адреналин и норадреналин) и их значимого модулятора ИЛ-6 в остром периоде ИИ было показано достоверное влияние этих параметров на течение, исход ИИ. А также на иммуногистохимические характеристики исследованных образцов нервной ткани коры головного мозга пациентов, умерших в остром периоде ИИ.

Умеренное повышение концентрации кортизола в периферической крови после ИИ необходимо как для непосредственной стимуляции процессов нейропластичности, так и для их метаболического и субстратного обеспечения и имеет адаптивное значение, что было характерно для пациентов с благоприятным исходом острого периода ИИ. Чрезмерное ее увеличение имеет отрицательный патофизиологический эффект, ведет к дезадаптации и характерно для пациентов с неблагоприятным течением ИИ. В работе были выявлены достоверные корреляционные связи, свидетельствующие в пользу препятствующего реализации апоптоза

действия гормонов симпато-адреналовой системы (преимущественно адреналина). С концентрацией кортизола было выявлено максимальное количество достоверных корреляционных связей, свидетельствующих в пользу его проапоптотических свойств. Необходимо учитывать то, что закономерное повышение концентрации гормонов стресс-реализующей системы происходило в рамках референсных значений и, следовательно, не может быть использовано в клинической практике для оценки состояния и прогноза течения и исхода у пациентов с ИИ в стационаре. При этом выраженность депрессии и тревоги в баллах по шкале HADS достоверно коррелировала с концентрацией эффекторов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Широкий диапазон значений по этой шкале и простота применения делает ее хорошим инструментом для клинической оценки состояния и прогноза функционального исхода острого периода ИИ.

Патогенетические механизмы развития депрессии и ИИ имеют сходные звенья патогенеза [296, 297], которые в остром периоде ИИ становятся общими взаимно дополняя и усиливая друг друга у пациентов с неблагоприятным течением острого периода. Это объясняет их перекрестный прогностический потенциал, выявленный и наглядно продемонстрированный в настоящей работе. Также вышеприведенные результаты диссертационного исследования и анализа научной и практической литературы патогенетически обосновывают необходимость профилактики и коррекции депрессивных состояний, а также работы с пациентами после ИИ с целью формирования у них адекватных копинг-стратегий, взаимосвязанных с закономерностями активации стресс-реализующей системы [271, 615].

При реализации патоморфологической части исследования было выявлено, что в остром периоде ИИ в коре головного мозга наблюдается закономерное пропорциональное приближенности к ишемическому очагу увеличение по сравнению с контролем доли нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы. При этом в контрлатеральном ишемическому очагу полушарии также отмечалось достоверное увеличение

по сравнению с контролем доли нейронов, экспрессирующих регулирующие реализацию апоптоза молекулы. Экспрессия белков, связанных с выживанием и адаптацией клетки уменьшается по мере приближения к ишемическому очагу. Таким образом, было показано, что развитие ИИ сопровождается одновременной активацией конкурирующих между собой механизмов гибели и адаптации нейронов коры головного мозга. На доминирование реализуемого процесса влияет совокупность факторов микроокружения нейронов, ключевыми из которых являются энергообеспечение и внешняя стимуляция. В ипсилатеральном полушарии энергообеспечение в большей мере зависит от особенностей нарушения регионарного кровотока. Тогда как в контралатеральном – определяется другими факторами. Вероятно, наиболее значимыми являются особенности организации коннектома пациента до развития ИИ и условия, к которым в совокупности с утратой его (коннектома) части адаптируется пациент в условиях стационара.

Совокупность таких условий может быть обозначена как «запрос системы на адаптацию». Совокупность изменений параметров среды может приводить к формированию под ее влиянием конкурентных отношений внутри рассматриваемой системы. Это влечет за собой изменение параметров ее функционирования, что отражается появлением у системы нового признака/функции с течением времени. На различных уровнях организации живой материи должны учитываться соответствующие ему (выбранному уровню) параметры и способы их оценки. Например, на уровне нейрона в условиях церебральной ишемии запрос на адаптацию – это совокупность градиентов всех физических и химических параметров микроокружения нейрона (парциальное напряжение кислорода, рН, концентрация глюкозы, концентрация нейромедиаторов, ростовых факторов и других БАВ и прочие). На уровне пациента – это совокупность лечебных, реабилитационных, профилактических воздействий и условия стационара (питание, температура в помещении, особенности ухода и прочее).

На основании полученных в работе фактических данных об одновременной экспрессии в нейронах белков активации и реализации клеточной гибели, а также о наличии связей этих процессов с удаленностью от очага ишемии, закономерностями активации стресс-реализующей системы, клиническими показателями течения острого периода ИИ сформулирована концепция о закономерностях изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ. Эта концепция учитывает данные о плеiotропности оказываемых на нейрон эффектов регулирующих апоптоз факторов. И предполагает, что на выбор итогового реализуемого в нейроне процесса влияет совокупность факторов его микроокружения. При этом изменение каждого фактора в отдельности (например, взаимодействие рецепторов смерти Fas нейрона с лигандами) является лишь прецедентом, в результате которого в нейроне начинается конкуренция активированных сигнальных путей и определяемых ими процессов для реализации клеточной гибели или адаптивного изменения его (нейрона) фенотипа. При этом состоявшийся апоптоз нейрона может быть звеном патогенеза и приводить к усугублению тяжести состояния пациента. Одновременно апоптоз может быть и адаптивным механизмом реализации нейропластичности. Таким образом, плеiotропные эффекты регулирующих апоптоз факторов, определяющие изменения в нейронах, можно свести к двум ключевым направлениям: активации процессов адаптации к среде микроокружения или к реализации клеткой суицидальных программ. Если энергетическое и субстратное обеспечение нейронов выше критического уровня, то выполняется следующее условие: чем система стабильнее (зона 3, расположенная в контрлатеральном ишемическом очагу полушарии), тем ниже ее адаптационный диапазон и вероятность реализации механизмов клеточной гибели; чем система лабильнее (зона 2 или «зона пенумбры») - тем они выше. Потенциально способное индуцировать апоптоз взаимодействие лиганда и рецептора не является ключевым событием для определения судьбы клетки. Это взаимодействие создает прецедент для начала

конкуренции многоуровневых внутриклеточных каскадов за энергию и вторичные мессенджеры.

Таким образом, апоптоз нейронов – неотъемлемый компонент восстановления утраченных после ИИ функций. В остром периоде ИИ он должен рассматриваться не только как облигатно негативное явление, но и как значимый саногенетический механизм, обеспечивающий адаптацию организма на всех уровнях организации живой материи к изменению окружающей и внутренней среды. Апоптоз нейронов – значимый механизм адаптации к последствиям ИИ. Роль (значение) апоптоза нейронов в коре головного мозга при ИИ зависит от уровня рассмотрения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социум), а также от критериев оценки адаптивности ответа, задаваемых исследователем или врачом. Основной принцип управления механизмами регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ заключается в последовательной целенаправленной модификации совокупности показателей их микроокружения посредством создания и целенаправленной модификации совокупности факторов среды окружающей пациента («реабилитационной среды»).

Выводы

1. Для острого периода ИИ характерно закономерное увеличение концентрации в крови растворимых регулирующих апоптоз факторов sFasL, sFas и TNF α по сравнению с контролем. При этом для растворимых эффекторов системы Fas свойственно прогрессивное нарастание их концентрации в течение всего острого периода, а для эффекторов системы TNF α более сложная разнонаправленная динамика.
2. Соотношение уровней растворимых регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов в крови при поступлении пациента с ИИ в стационар целесообразно использовать для прогноза исхода его острого периода. При соотношении концентраций sFasL/sFas меньшем или равном $2,41 \pm 0,26$ прогнозируют уменьшение неврологического дефекта до 5 баллов и ниже по шкале NIHSS в течение острого периода ИИ (благоприятный исход). При соотношении концентраций sFasL/sFas в крови большем $2,41 \pm 0,26$ прогнозируют развитие неблагоприятного исхода (неврологический дефект более 5 баллов по шкале NIHSS).
3. Эффекты и роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных взаимодействий в патогенезе ИИ зависят от времени, прошедшего с момента его манифестации. В острейшем периоде роль механизмов регуляции сопряжена преимущественно с развитием локального и системного воспалительных ответов, а в исходе острого периода – с доминированием адаптивных механизмов и процессов нейропластичности.
4. Для острого периода ИИ характерна активация стресс-реализующей системы. Закономерная динамика концентрации ее гормонов в периферической крови у пациентов после ИИ существенно влияет на его функциональный исход и коррелирует с выраженностью депрессии. Уровень депрессии на 7-е сутки после манифестации ИИ в 12 баллов и выше по HADS является значимым предиктором его неблагоприятного исхода.
5. Степень неврологического дефекта в острейшем периоде ИИ определяет выраженность депрессии в исходе его острого периода.

Неврологический дефект при поступлении пациента с ИИ в стационар больше 10 по шкале NIHSS следует считать предиктором развития депрессии в течение последующего острого периода ИИ.

6. Динамика содержания в периферической крови кортизола и АКТГ в определенной мере отражает состояние стресс-реализующей системы в остром периоде ИИ. Однако, их уровни находятся в рамках диапазона общепопуляционной нормы. С учетом этого факта для прогноза исхода острого периода ИИ и вероятности развития депрессии использование данных о содержании указанных гормонов целесообразно в совокупности с другими показателями.

7. В остром периоде ИИ в коре головного мозга наблюдается закономерное пропорциональное приближенности к ишемическому очагу увеличение по сравнению с контролем доли нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы. Синтез белков, связанных с выживанием и адаптацией клетки уменьшается по мере приближения к ишемическому очагу и наиболее представлена в контрольных образцах.

8. Развитие ИИ сопровождается активацией конкурирующих механизмов альтерации и адаптации нейронов коры головного мозга. На доминирование реализуемого процесса влияет совокупность факторов микроокружения нейронов и уровень их энергообеспечения.

9. Апоптоз нейрона может быть звеном патогенеза и приводить к усугублению тяжести состояния пациента. Одновременно апоптоз может быть и адаптивным механизмом нейропластичности. Для трактовки роли апоптоза при ИИ необходимо учитывать уровень изучения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социальная адаптация пациента, общество) и критерии адаптивности ее ответа.

Практические рекомендации

1. Соотношение в периферической крови концентраций растворимых регулирующих апоптоз рецепторов и лигандов на момент начала клинической манифестации ИИ целесообразно использовать как прогностический показатель функционального исхода его острого периода. Наибольшую прогностическую значимость имеет величина соотношения концентраций sFasL и sFas.
2. При разработке новых способов лечения ИИ, направленных на модуляцию интенсивности апоптоза, следует учитывать плеiotропную роль регулирующих его лиганд-рецепторных взаимодействий. Так же то, что на выбор реализуемого процесса влияет совокупность факторов микроокружения нейрона, в том числе - воспроизводимое в используемой для эксперимента модели.
3. При проведении экспериментальных исследований необходимо учитывать тот факт, что апоптоз является неотъемлемым компонентом восстановления утраченных после ИИ функций и должен рассматриваться не только как компонент патогенеза, но и как значимый механизм адаптации организма к изменению окружающей и внутренней среды. Для трактовки роли апоптоза необходимо определение уровня рассмотрения исследуемой системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социальная адаптация пациента, общество), а также критериев адаптивности ее ответа в конкретных условиях среды.
4. Уровень депрессии по шкале HADS у пациента на 7-е сутки после манифестации ИИ в 12 баллов и выше может расцениваться как предиктор неблагоприятного исхода острого периода ИИ, требующий расширения последующих реабилитационных программ.
5. Неврологический дефект при поступлении пациента с ИИ в стационар больше 10 по шкале NIHSS может рассматриваться как предиктор развития депрессии в течение последующего острого периода ИИ.

6. Использование в клинике с прогностической целью исхода острого периода ИИ и вероятности развития в нем депрессии концентраций в периферической крови кортизола и АКТГ нецелесообразно.
7. Для оценки влияния различных факторов на клиническое течение ИИ следует использовать динамический показатель темпа восстановления (отношение разности баллов по шкале для оценки неврологического дефекта после ИИ ко времени в неделях/днях по формуле: $T = (Z1 - Z2)/n$, где: T – темп восстановления; $(Z1 - Z2)$ – разность баллов по используемой шкале (например, NIHSS) за данный временной промежуток; n – количество недель/дней в данном временном промежутке).
8. Реабилитационная стратегия в остром и последующих периодах ИИ должна заключаться в персонализированном целенаправленном моделировании и непрерывной последовательной модификации совокупности факторов реабилитационной макросреды окружения пациента исходя из условий его дальнейшего местонахождения и образа жизни.
9. Оценку успешности реабилитационной программы пациента с ИИ следует проводить на разных уровнях рассмотрения организации живой материи (восстановление клеточной популяции и объема утраченных связей, функциональное восстановление, социальная адаптация).
10. При формировании реабилитационной стратегии объем восстановления популяции нейронов и их связей в головном мозге после ИИ должен соответствовать времени и уровню функциональной нагрузки, направленной на устранение дефекта.

Список сокращений и условных обозначений

А - адреналин

АКТГ - адренокортикотропного гормона

БАВ – биологически активное вещество

ИГХ - иммуногистохимия

ИИ – ишемический инсульт

ИЛ-6 – интерлейкин-6

ИФА - иммуноферментный анализ

К – кортизол

ЛСМА – левая средняя мозговая артерия

НА - норадреналин

ПСМА - правая средняя мозговая артерия

CD – кластер дифференцировки (cluster of differentiation)

ERK1/2 - регулируемая внеклеточными сигналами киназа 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2)

FAIM2 - Fas-апоптоз ингибиторная молекула 2 (Fas apoptotic inhibitory molecule 2)

HADS - госпитальная шкала тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale)

NIHSS - шкала инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale)

NSE - нейронспецифическая енолаза (neuron specific enolase)

sFas - растворимый рецептор Fas (soluble Fas)

sFasL – растворимый лиганд Fas (soluble Fas ligand)

sTNF-R1 – (soluble tumor necrosis factor receptor 1)

TNF α – фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor α)

Список литературы

1. Арсентьева Е.В., Полякова Д.И. Нейрорегенерация и нейропротекция: перспективы клинического применения факторов роста и других биоактивных веществ // Медицинский Альянс. - 2021. - Т. 9, № 1. - С. 82–90.
2. Бабкина И.И., Сергеева С.П., Горбачева Л.Р. Роль транскрипционного фактора NF-κB в нейровоспалении // Нейрохимия. - 2021. - Т. 38, № 2. - С. 111–126.
3. Баринова Е.В. Методы психической саморегуляции // Научные тенденции: Педагогика и психология. - 2019. - С. 59–60.
4. Бахчина А.В., Лаукка С.Х., Парин С.Б., Гаврилов В.В. Динамика стресс-активации при повторении стрессогенного воздействия в эксперименте // Современные технологии в медицине. - 2019. - Т. 11, № 1. - С. 155–162.
5. Босенко Ю.М. Развитие навыков саморегуляции у спортсменов методом биологической обратной связи // Ресурсы конкурентоспособности спортсменов: теория и практика реализации. - 2017. - № 7. - С. 45–45.
6. Воскресенская О.Н., Захарова Н.Б., Иванов М.В. Механизмы формирования хронической ишемии головного мозга при артериальной гипертензии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2017. - Т. 117, № 2. - С. 68–71.
7. Галкин С.А., Симуткин Г.Г., Счастный Е.Д. и др. Обзор применение биологической обратной связи в терапии пациентов с депрессивными расстройствами // Современная терапия психических расстройств. - 2020. - № 3. - С. 38–43.
8. Гелеранская О.А., Гончаров Н.В., Маслова М.Н. и др. Влияние физической нагрузки на ультраструктурные изменения в коре головного мозга крыс // Морфология. - 2016. - Т. 149, № 3. - С. 62–62а.
9. Глазачев О.С., Крыжановская С.Ю., Дудник Е.Н. и др. Адаптация к пассивной гипертермии: влияние на субъективные характеристики качества

жизни, тревожности и уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF) // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2019. - Vol.5. - С. 544–555.

10. Голубев А.М., Москалева Е.Ю., Северин С.Е. и др. Апоптоз при критических состояниях // Общая реаниматология. - 2006. - Т. 2, № 5–6. - С. 184–190.

11. Гомазков О.А. Коррекция нейрогенеза взрослого мозга. Выбор терапевтических мишеней // Нейрохимия. - 2017. - Т. 34, № 1. - С. 5–15.

12. Гуляева Н.В. Глюкокортикоидная регуляция глутаматергического синапса: механизмы стресс-зависимой нейропластичности // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2021. - Т. 107, № 4–5. - С. 518–532.

13. Гусакова Е.А., Городецкая И.В. Значение глюкокортикоидов в организации стресс-реакции организма // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2020. - Т. 19, № 1. - С. 24–35.

14. Дамулин И.В. Системная психоневрология: перенесённый инсульт и факторы, влияющие на восстановление // Неврологический журнал. - 2017. - Т. 22, № 5. - С. 223–225.

15. Домашенко М.А., Максимова М.Ю., Танашян М.М. Системный тромболизис при ишемическом инсульте: клинические факторы персонифицированной эффективности и безопасности // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2019. - Т. 13, № 1. - С. 5–14.

16. Дробленков А.В., Наумов Н.В., Монида М.В. и др. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию // Медицинский академический журнал. - 2013. - Т. 13, № 4. - С. 19–28.

17. Дубинина Е.Е., Щедрина Л.В., Мазо Г.Э. Основные биохимические аспекты патогенеза депрессии. Часть 1 // Успехи физиологических наук. - 2018. - Т. 49, № 1. - С. 28–49.

18. Евзельман М.А., Митяева Е.В., Лашхия Я.Б., Камчатнов П.Р. Острая церебральная ишемия и воспаление // Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. - 2019. - Т. 119, № 12–2. - С. 73–80.

19. Епифанцева Н.Н., Борщикова Т.И., Ситников П.Г. и др. Сывороточные маркеры апоптоза при травматическом и ишемическом повреждении головного мозга // Общая реаниматология. - 2009. - Т. 5, № 6. - С. 54–59.

20. Ермакова Н.Г. Психологическая реабилитация больных с последствиями инсульта в условиях восстановительного лечения // Медицинская психология в России. - 2018. - Т. 10, № 2. - С. 9–19.

21. Ерофеева Л.М., Сергеева С.П. Морфофункциональные изменения головного мозга человека после ишемического инсульта // Морфология. - 2014. - Т. 145, № 3. - С. 72–72.

22. Ерофеева Л.М., Сергеева С.П., Шишкина Л.В. Морфофункциональная характеристика головного мозга после ишемического инсульта // материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 120-летней годовщине со дня рождения профессора Б.М. Соколова, Рязань, 3 – 4 июня 2016 г. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2016. № 2. С. 67–67.

23. Заваденко Н.Н., Нестеровский Ю.Е., Холин А.А., Воробьева И.С. Когнитивные и пароксизмальные расстройства в отдаленном периоде черепно-мозговой травмы у детей и подростков // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2019. - Т. 119, № 1. - С. 110–117.

24. Замараев А.В., Животовский Б., Копейна Г.С. Вирусные инфекции: негативный регулятор апоптоза и фактор онкогенности // Биохимия. - 2020. - Т. 85, № 10. - С. 1398–1410.

25. Захаров В.В., Калимеева Е.Ю. Нейропротективная терапия в остром и восстановительном периодах ишемического инсульта // Эффективная фармакотерапия. - 2017. - Vol.33. - С. 10–14.

26. Зурочка А.В., Давыдова Е.В., Альтман Д.А. Интенсивность процессов апоптоза и пролиферации лимфоцитов в условиях дислипидемии при ранних формах хронической ишемии мозга // Медицинская иммунология. - 2014. - Т. 16, № 1. - С. 27–34.

27. Камчатнов П.Р., Радыш Б.Б., Глушков К.С., Чугунов А.В. Хронические цереброваскулярные расстройства-современные подходы к лечению // Русский Медицинский Журнал. - 2008. - Т. 16, № 6. - С. 358–361.

28. Касаткин Д.С. Нейроваскулярная единица как точка приложения действия некоторых вазоактивных и нейропротективных препаратов // Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. - 2012. - Т. 112, № 9. - С. 103–107.

29. Ключихина О.А., Шпрах В.В., Стаховская Л.В. и др. Динамика показателей заболеваемости инсультом и смертности от него за восьмилетний период на территориях, вошедших в федеральную программу реорганизации помощи пациентам с инсультом // Acta Biomedica Scientifica. - 2021. - Т. 6, № 1. - С. 75–80.

30. Ключева Л.А., Коплик Е.В., Швецов Э.В., Васянина К.А. Неврологический статус и структурные изменения лимфоидной ткани трахеи у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу при экспериментальном геморрагическом инсульте // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 8–2. - С. 45–48.

31. Ключник Т.П., Отман И.Н., Чуканова А.С. и др. Динамика маркеров апоптоза в остром периоде ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. - 2018. - Т. 118, № 9 (2). - С. 26–31.

32. Кметь Т.И. Влияние острого нарушения кровообращения в бассейне сонных артерий на содержание белка p53+ в нервных и глиальных клетках коры теменной доли больших полушарий головного мозга лабораторных крыс // Вестник Казахского Национального медицинского университета. - 2015. - № 2. - С. 485–487.

33. Ковальчук В.В., Баранцевич Е.Р. Хроническая ишемия головного мозга. Современные представления об этиопатогенезе, диагностике и терапии // Эффективная фармакотерапия. - 2017. - Vol.19. - С. 26–33.

34. Коржевского Д.Э. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии / Д. Э. Коржевского, под ред. Д. Э. Коржевского, Санкт-Петербург: СпецЛит, 2017.

35. Коробцов А.В., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Характеристика нейротрофинов и их локализация в неокортексе крыс при острой экспериментальной ишемии // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. - 2018. - Vol.4. - С. 235–241.

36. Королев А.А., Сулова Г.А. Применение индекса Бартела для оценки постинсультных больных с двигательными расстройствами 2010. - С. 58–59.

37. Котов С.В., Исакова Е.В., Егорова Ю.В. Постинсультная депрессия и возможности антидепрессантов в повышении эффективности нейрореабилитации // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2020. - Т. 18, № 10. - С. 110–116.

38. Котов С.В., Стаховская Л.В. Инсульт: Руководство для врачей / С. В. Котов, Л. В. Стаховская, Москва: Медицинское информационное агентство, 2018. 488 с.

39. Красавина Н.П., Целуйко С.С., Зубов А.А. Значение апоптоза и экстрезии для сохранения структуры эпителия дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2021. - Vol.79. - С. 141–153.

40. Крыжановская С.Ю., Запара М.А., Глазачев О.С. Нейротрофины и адаптация к средовым стимулам: возможности расширения терапевтического потенциала"(краткий обзор) // Вестник Международной академии наук. Русская секция. - 2020. - № 1. - С. 36–43.

41. Кузнецова С.М., Черская М.С. Клинические аспекты применения нейропротекторов у пациентов с хроническими цереброваскулярными

заболеваниями и сахарным диабетом 2 типа // The Scientific Heritage. - 2020. - Vol.54. - С. 60–68.

42. Кулеш А.А. Нейропротективная терапия в остром периоде ишемического инсульта // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2021. - Т. 13, № 4. - С. 94–102.

43. Кутлубаев М.А., Ахмадеева Л.Р. Нейроиммунные механизмы в развитии постинсультной депрессии // Журнал Неврологии и Психиатрии. - 2013. - Т. 113, № 2. - С. 76–79.

44. Левчук Л.А., Вялова Н.М., Михалицкая Е.В. и др. Роль BDNF в патогенезе неврологических и психических расстройств // Современные проблемы науки и образования. - 2018. - № 6. - С. 58–58.

45. Липатова А.С., Каде А.Х., Трофименко А.И., Поляков П.П. Коррекция стресс-индуцированных нейроиммуноэндокринных нарушений у самцов крыс с низкой устойчивостью к стрессу применением транскраниальной электростимуляции // Человек и его здоровье. - 2018. - № 3. - С. 58–68.

46. Литвинцев Б.С., Одинак М.М., Гайкова О.Н. и др. Клинико-морфологическая характеристика неврологических проявлений наркомании // Профилактическая и клиническая медицина. - 2011. - Т. 39, № 2. - С. 99–104.

47. Литвицкий П.Ф. Клиническая патофизиология: учебник / П. Ф. Литвицкий, 4-е изд., Москва: Практическая медицина, 2017. 496 с.

48. Литвицкий П.Ф., Нуралиева Н.Ф., Сергеева С.П. Патофизиологическая значимость стрессовой гипергликемии у пациентов с ишемическим инсультом // Сеченовский Вестник. - 2014. - Т. 15, № 1. - С. 47–54.

49. Логаткина А.В., Терехов И.В., Бондарь С.С., Никифоров В.С. Диагностическая ценность растворимых молекул адгезии и костимуляторных молекул иммунокомпетентных клеток у больных ишемической болезнью сердца // Медицинская иммунология. - 2019. - Т. 21, № 6. - С. 1169–1178.

50. Лубышев Е.А. Применение копинг-стратегий в преодолении стрессовых ситуаций с в спорте // Бюллетень института естествознания и спортивных технологий. - 2021. - С. 82–89.

51. Луговая А.В., Эмануэль В.С., Артемова А.В., Митрейкин В.Ф. Современные подходы к оценке биологических маркеров аутофагии и апоптоза при остром ишемическом инсульте // Современные проблемы науки и образования. - 2020. - № 4. - С. 159–159.

52. Майорова Л.А., Алферова В.В., Купцова С.В., Шкловский В.М. Функциональная и анатомическая коннективность мозга при постинсультной афазии // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. - 2018. - Т. 68, № 2. - С. 141–151.

53. Максимова М.Ю., Степанченко О.А. Стрессовая гипергликемия и течение инсульта // Consilium Medicum. - 2020. - Т. 22, № 2. - С. 19–23.

54. Максимович И.В. Церебральные микроциркуляторные изменения при болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных и ишемических заболеваниях, сопровождающихся деменцией // Диагностическая и интервенционная радиология. - 2019. - Т. 13, № 3. - С. 45–57.

55. Мальков П.Г. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике.Руководство / П. Г. Мальков, под ред. П. Г. Малькова, Г. А. Франка, Москва: У Никитских ворот, 2011. 108 с.

56. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2016. - С. 11–22.

57. Маслов Л.Н., Цибульников С.Ю., Прокудина Е.С. и др. Роль симпатoadреналовой системы в ишемическом прекодиционировании сердца // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. - 2018. - Т. 104, № 5. - С. 521–535.

58. Мельниченко П.В., Мещерякова А.В., Голованов А.В., Мурейко Е.А. Нутриционная поддержка как ведущий компонент интенсивной терапии

в остром периоде инсульта // Таврический медико-биологический вестник. - 2019. - Т. 22, № 1. - С. 176–182.

59. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов, 3-е изд., Ленинград: Медицина, 1969. 406 с.

60. Минеева О.А., Безряднов Д.В., Чехов С.А., Сварник О.Е., Анохин К.В. Интегративные функции ретроспленальной коры: данные анатомии, коннектомики и клеточной электрофизиологии у крыс // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2019. - Т. 13, № 1. - С. 47–54.

61. Минздрав Росии Приказ Минздрава России от 29.12.2012 N1740н “Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при инфаркте мозга” (Зарегистрировано в Минюсте России 05.03.2013 N 27483) / Минздрав Росии,.

62. Моисеенко В.А. Клиническое применение метода биологической обратной связи // Вопросы устойчивого развития общества. - 2020. - № 9. - С. 512–517.

63. Мыщик А.В. Использование программы ImageJ для автоматической морфометрии в гистологических исследованиях // Омский научный вестник. - 2011. - Т. 100, № 2. - С. 187–189.

64. Мыщик А.В. и др. Актуальные проблемы изучения структурно-функционального состояния нейронов коры большого мозга человека в постишемическом периоде // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2012. - Т. 1, № 1. - С. 37–47.

65. Мыщик А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С., Ларионов П.М. Влияние ишемии на нейроглиальные взаимоотношения лобной коры большого мозга человека // Омский научный вестник. - 2013. - Т. 118, № 1. - С. 74–77.

66. Назметдинова Д.Г., Обуховская В.Б. Мишени психологической реабилитации пациентов с ишемическим инсультом в период компенсации и

реадаптации // Общество: социология, психология, педагогика. - 2018. - № 11. - С. 1–6.

67. Наумов Н.Г., Дробленков А.В. Реактивные изменения нейронов и астроцитов прилежащего ядра головного мозга после ограничения кровотока у крыс // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. - 2016. - Т. 97, № 6. - С. 144–147.

68. Никифорова А.М. Применение тренингов биологической обратной связи у больных гипертонической болезнью с расстройствами тревожно-депрессивного спектра // Bulletin Of Psychotherapy. - 2020. - Vol.73. - С. 7–17.

69. Огай В.И. Совладающее поведение у людей пожилого возраста, переживших инсульт // Бюллетень науки и практики. - 2021. - Т. 7, № 8. - С. 313–318.

70. Олейникова Т.А., Титова А.А., Евстратов А.В. Современное состояние и тенденции заболеваемости инфарктом мозга в России // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. - 2021. - № 2. - С. 522–535.

71. Осколок Л.Н., Порядин Г.В. Основные механизмы повреждения клеток. Учебное пособие. / Л. Н. Осколок, Г. В. Порядин, Москва: ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава России, 2016. 55 с.

72. Острова И.В., Голубева Н.В., Кузовлев А.Н., Голубев А.М. Прогностическая значимость и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического фактора BDNF при повреждении головного мозга (обзор) // Общая реаниматология. - 2019. - Т. 15, № 1. - С. 70–86.

73. Пальцын А.А. Матриксные протеиназы при инсульте // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2017. - Т. 61, № 3. - С. 110–117.

74. Панкова Н.Б. Механизмы срочной и долговременной адаптации // Патогенез. - 2020. - Т. 18, № 3. - С. 77–86.

75. Парфенов В.А. Когнитивные нарушения после инсульта // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2019. - Т. 11, № 4. - С. 22–27.

76. Парфенов В.А. Ведение больного после ишемического инсульта // Российский неврологический журнал. - 2020. - Т. 25, № 5. - С. 51–57.
77. Пирадов М.А., Супонева Н.А., Селиверстов Ю.А. и др. Возможности современных методов нейровизуализации в изучении спонтанной активности головного мозга в состоянии покоя // Неврологический журнал. - 2016. - Т. 21, № 1. - С. 4–12.
78. Пирадов М.А., Танащян М.М., Максимова М.Ю. Инсульт: современные технологии диагностики и лечения / М. А. Пирадов, М. М. Танащян, М. Ю. Максимова, Москва: МЕДпресс-информ, 2018. 360 с.
79. Пирадов М., Максимова М., Танащян М. Инсульт: пошаговая инструкция / М. Пирадов, М. Максимова, М. Танащян, GEOTAR-Media, 2019. 272 с.
80. Полякова Е.О. Качество жизни и преобладающие стратегии совладания (копинг-стратегии) у кардиологических пациентов с прогрессивным течением Пенза: МЦНС «Наука и просвещение», 2020. - С. 174–186.
81. Пономарёв В.В., Римашевский В.Б., Кузьменко С.Г., Живолупов С.А. Современные нейровизуализационные технологии в диагностике мозговых инсультов у лиц молодого возраста // Наука и здравоохранение. - 2020. - № 2. - С. 72–78.
82. Попова В.Д. Изучение уровня стресса у больных терапевтического профиля, находящихся в критических состояниях // Известия Российской Военно-медицинской академии. - 2019. - Vol.3. - № S1. - С. 124–127.
83. Салехов С.А., Барикова А.Р., Яблочкина Е.С. Роль психологического стресса, его энергетического обеспечения и социальной иммобилизации в развитии психосоматики (интегративный подход) Санкт-Петербург., 2019. - С. 161–162.
84. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов, Москва: Медицина, 1996. 544 с.

85. Сергеева С.П. Апоптоз в развитии церебральной ишемии под ред. В. В. Моррисона, Саратов: Издательство СГМУ, 2011. - С. 77–83.
86. Сергеева С.П., Литвицкий П.Ф., Гулятьев М.М. и др. К механизму Fas-индуцированного апоптоза нейронов в патогенезе ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2013. - № 3. - С. 15–18.
87. Сергеева С.П. Клеточный иммунный ответ и цитокиновый профиль после острого нарушения мозгового кровообращения в динамике Москва:, 2014. - С. 251–253.
88. С Сергеева С.П., Литвицкий П. Ф., Бреславич И. Д., Гулятьев М. М. Изменение соотношения уровней растворимых TNF-альфа и TNF-R1 в крови как одно из ключевых звеньев патогенеза, диагностический и прогностический показатель при ишемическом инсульте // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2014. - Т. 58, № 1. - С. 13–17.
89. Сергеева С.П., Бреславич И.Д., Ерофеева Л.М., Гулятьев М.М. Динамика и прогностическое значение содержания cd3cd95 лимфоцитов, растворимых Fas рецептора и Fas лиганда в периферической крови после ишемического инсульта // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2014. - Т. 13, № 2. - С. 56–61.
90. Сергеева С.П. Fas-индуцированный апоптоз играет значимую роль в патогенезе ишемического инсульта Москва:, 2015. - С. 19–22.
91. Сергеева С.П., Ерофеева Л.М., Шишкина Л.В. и др. Некоторые аспекты морфологии нервной ткани головного мозга после острого нарушения мозгового кровообращения // Вестник новых медицинских технологий. - 2016. - Т. 23, № 3. - С. 130–135.
92. Сергеева С.П., Шишкина Л.В., Литвицкий П.Ф. и др. Изменения структуры нейронов и астроцитов серого вещества головного мозга при его острой локальной ишемии у человека // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2016. - № 4. - С. 4–8.

93. Сергеева С.П., Савин А.А., Архипов В.В. и др. Прогнозирование исхода острого периода ишемического инсульта: роль маркеров апоптоза // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. - 2017. - Т. 11, № 1. - С. 21–27.

94. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф., Архипов В.В. Влияние факторов индукции апоптоза на клиническое течение ишемического инсульта под ред. Е. И. Гусева, А. Б. Гехт, М. Ю. Мартынова, Москва:, 2017. - С. 653–653.

95. Сергеева С.П., Савин А.А., Шишкина Л.В., Виноградов Е.В. Головной мозг после ишемического инсульта: клинко-гистологическое исследование // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. - 2017. - Т. 2, № 3. - С. 55–59.

96. Сергеева С.П., Ерофеева Л.М., Савин А.А. и др. Роль апоптотических факторов в повреждении нервной ткани и восстановлении ее функционирования после ишемического инсульта // *Вестник уральской медицинской академической науки*. - 2017. - Т. 2, № 14. - С. 156–163.

97. Сергеева С.П., Савин А.А., Бреславич И.Д. и др. Уровень интерлейкина 6 в остром периоде ишемического инсульта: влияние на темп восстановления пациентов и выраженность неврологического дефекта // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. - 2018. - Т. 10, № 3. - С. 29–35.

98. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. и др. Апоптоз как системный адаптивный механизм при ишемическом инсульте // *Журнал неврологии и психиатрии им. И.М. Корсакова*. - 2018. - Т. 118, № 12. - С. 38–45.

99. Сергеева С.П., Ерофеева Л.М., Савин А.А. и др. Роль апоптотических факторов в повреждении нервной ткани головного мозга при ишемическом инсульте. Гродно:, 2018. - С. 140–143.

100. Сергеева С.П., Савин А.А., Савин Л.А. и др. Влияние нейрогуморального ответа на течение острого периода ишемического инсульта // *Журнал неврологии и психиатрии им. И.М. Корсакова*.

Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. СПб, 15-19 июня 2019 г. 2019. Т. 119. № 5. С. 466–467.

101. Сергеева С.П., Аникина М.А., Савин А.А. и др. Темп восстановления – наиболее эффективный показатель для оценки влияния различных факторов на клиническое течение инсульта // Журнал неврологии и психиатрии им. И.М. Корсакова. Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. СПб, 15-19 июня 2019 г. 2019. Т. 119. С. 455–456.

102. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. и др. Нейрогуморальный ответ и активность Fas-лиганда периферической крови в остром периоде ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 6. - С. 57–63.

103. Сергеева С.П., Люндуп А.В., Береговых В.В. и др. Закономерности экспрессии белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1 в нейронах коры головного мозга человека после ишемического инсульта // Вестник РАМН. - 2020. - Т. 75, № 3. - С. 226–234.

104. Сергеева С.П., Литвицкий П.Ф., Савин А.А., Манасова З.Ш. Закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов в острейшем периоде ишемического инсульта, соответствующего этапу нейрореанимации. Москва:, 2020. - С. 85–86.

105. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. и др. Закономерности активации стресс-реализующей системы и ее влияние на течение и исход острого периода ишемического инсульта // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. - 2022. - № 2. - С. 1–11.

106. Сергеева С.П., Литвицкий П.Ф., Гульяев М.М. и др. Пат. 2517471 Российская Федерация, МПК G 01 N 33/53. Способ прогнозирования исхода острого периода ишемического инсульта // заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России. – No RU2013108722/15A; заявл. 28.02.13; опубл. 27.05.14, RU2517471C1.

107. Сергеева С.П., Литвицкий П.Ф., Бреславич И.Д. Лиганд-рецепторные взаимоотношения апоптоз-индуцирующих молекул у пациентов после ишемического инсульта // Клиническая патофизиология. - 2014. - № 2. - С. 15–19.
108. Сергеева С.П., Савин А.А. Прогнозирование исхода острого периода ишемического инсульта по соотношению молекул системы fas 2015.
109. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. Роль системы Fas в патогенезе ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии. - 2016. - Т. 2, № 3. - С. 3–8.
110. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. Влияние стресса и воспаления на выраженность апоптоза в головном мозге и клинический исход острого периода ишемического инсульта. стендовый доклад 2018. - С. 217–217.
111. Сериков К.В. Изменение показателей стресс-лимитирующей системы у больных с геморрагическим инсультом на стадиях развития общего адаптационного синдрома во время проведения интенсивной терапии // Медицина неотложных состояний. - 2017. - Т. 85, № 6. - С. 62–66.
112. Скворцова В.И., Константинова Е.В., Шурдумова М.Х. и др. Провоспалительные цитокины у больных с острым ишемическим инсультом и инфарктом миокарда // Неврологический вестник. - 2007. - Т. 39, № 1. - С. 22–25.
113. Смагина И.В., Ельчанинова С.А., Палащенко А.С., Галактионова Л.П. Патологические и протективные эффекты фактора некроза опухолей- α при рассеянном склерозе // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. - 2019. - Т. 119, № 10. - С. 14–20.
114. Стамбольский Д.В., Плеханова О.С., Юдина И.Ю. и др. Система мозгового нейротрофического фактора (BDNF) как мишень для создания лекарственных средств, восстанавливающих иннервацию // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2017. - Т. 61, № 4. - С. 142–152.

115. Степанов А.С., Акулинин В.А., Мыщик А.В. и др. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии // Общая реаниматология. - 2017. - Т. 13, № 6. - С. 6–17.

116. Сурин А., Скородумов И., Громыко О. и др. Глутамат-индуцированная отсроченная кальциевая дизрегуляция и гибель нейронов: морфометрическое исследование первичной культуры гранулярных клеток мозжечка 2015. - С. 569–574.

117. Суслина З.А., Пирадов М.А., Домашенко М.А. Инсульт: оценка проблемы (15 лет спустя) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2014. - Т. 114, № 11. - С. 5–13.

118. Тверской А.В., Щеблыкина О.В., Колесниченко П.Д. и др. Церебропротекторные эффекты карбамилированного дарбэпозина на четырехсосудистой модели ишемии-реперфузии головного мозга крыс // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2019. - Т. 82, № 5. - С. 10–13.

119. Трушина Э.Н. Апоптоз нейронов головного мозга при ишемии Crossref, 2021. - С. 28–30.

120. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях // Проблемы эндокринологии. - 2017. - Т. 63, № 1. - С. 58–67.

121. Федин А.И., Бадалян К.Р. Обзор клинических рекомендаций лечения и профилактики ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. - 2019. - Т. 119, № 8. - С. 91–96.

122. Хасанова Д.Р., Данилов В.И. Инсульт. Современные подходы диагностики, лечения и профилактики. Методические рекомендации / Д. Р. Хасанова, В. И. Данилов, Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 352 с.

123. Хныченко Л.К. Стрессорные повреждения мозга // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2012. - Т. 10, № 2. - С. 8–13.
124. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Роль старения в эволюционном развитии человека // Вестник Российской академии наук. - 2020. - Т. 90, № 12. - С. 1119–1127.
125. Шерстнев В.В., Константинова Н., Грудень М.А. и др. Участие аутоиммунных механизмов в развитии ишемического повреждения головного мозга // Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. - 2005. - Т. 105, № 8. - С. 36–40.
126. Шишкин В.И., Назаров П.Г., Маленков Ю.А. и др. О соотношении различных путей клеточной смерти на отдельных этапах онтогенеза в норме и при системных заболеваниях соединительной ткани // Медицинская иммунология. - 2020. - Т. 22, № 4. - С. 657–664.
127. Шляпина В.Л., Юртаева С.В., Рубцова М.П., Донцова О.А. На распутье: механизмы апоптоза и аутофагии в жизни и смерти клетки // Acta Naturae. - 2021. - Т. 13, № 2. - С. 106–115.
128. Шобоев А.Е., Бальхаев И.М. Влияние комбинированной нейропротекции на восстановление двигательных и когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. - 2018. - Т. 33, № 4. - С. 131–135.
129. Щекина С.А., Усанова Т.А. Реабилитационные мероприятия в остром периоде ишемического инсульта // Norwegian Journal of Development of the International Science. - 2019. - Т. 28, № 1. - С. 26–28.
130. Щербина Н.В., Савченко В.В., Яшин К.Д. Исследование метода выработки навыка на релаксацию с биологической обратной связью по параметрам электродермальной активности // Новости медико-биологических наук. - 2019. - Т. 19, № 1. - С. 65–73.
131. Abadier M., Haghayegh Jahromi N., Cardoso Alves L. et al. Cell surface levels of endothelial ICAM-1 influence the transcellular or paracellular T-

cell diapedesis across the blood-brain barrier // *European Journal of Immunology*. - 2015. - Vol. 45, № 4. - P. 1043–1058.

132. Abdanipour A., Sagha M., Noori-Zadeh A. et al. In vitro study of the long-term cortisol treatment effects on the growth rate and proliferation of the neural stem/precursor cells // *Neurological Research*. - 2015. - Vol. 37, № 2. - P. 117–124.

133. Abubakar I.I., Tillmann T., Banerjee A. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 // *The Lancet*. - 2015. - Vol. 385, № 9963. - P. 117–171.

134. Adams H.P., Olinger C.P., Barsan W.G. et al. A dose-escalation study of large doses of naloxone for treatment of patients with acute cerebral ischemia. // *Stroke*. - 1986. - Vol. 17, № 3. - P. 404–409.

135. Adams H.P., Bendixen B.H., Kappelle L.J. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. // *Stroke*. - 1993. - Vol. 24, № 1. - P. 35–41.

136. Akamatsu Y., Hanafy K.A. Cell Death and Recovery in Traumatic Brain Injury // *Neurotherapeutics*. - 2020. - Vol. 17, № 2. - P. 446–456.

137. Akhter R., Sanphui P., Biswas S.C. The Essential Role of p53-up-regulated Modulator of Apoptosis (Puma) and Its Regulation by FoxO3a Transcription Factor in β -Amyloid-induced Neuron Death // *Journal of Biological Chemistry*. - 2014. - Vol. 289, № 15. - P. 10812–10822.

138. Al-Dasuqi K., Payabvash S., Torres-Flores G.A. et al. Effects of Collateral Status on Infarct Distribution Following Endovascular Therapy in Large Vessel Occlusion Stroke // *Stroke*. - 2020. - Vol. 51, № 9. - P. e193–e202.

139. Aleksandrova L.R., Wang Y.T., Phillips A.G. Evaluation of the Wistar-Kyoto rat model of depression and the role of synaptic plasticity in depression and antidepressant response // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. - 2019. - Vol.105. - P. 1–23.

140. Aligholizadeh E., Teeter W., Patel R. et al. A novel method of calculating stroke volume using point-of-care echocardiography // *Cardiovascular Ultrasound*. - 2020. - Vol. 18, № 1. - P. 1–7.

141. Álvarez-Diduk R., Galano A. Adrenaline and Noradrenaline: Protectors against Oxidative Stress or Molecular Targets? // *The Journal of Physical Chemistry B*. - 2015. - Vol. 119, № 8. - P. 3479–3491.

142. Andrabi S.S., Parvez S., Tabassum H. Ischemic stroke and mitochondria: mechanisms and targets // *Protoplasma*. - 2020. - Vol. 257, № 2. - P. 335–343.

143. Angeleri F., Angeleri V.A., Foschi N. et al. The influence of depression, social activity, and family stress on functional outcome after stroke. // *Stroke*. - 1993. - Vol. 24, № 10. - P. 1478–1483.

144. Ankarcrona M., Dypbukt J.M., Bonfoco E., Zhivotovsky B., Orrenius S., Lipton S.A., Nicotera P. Glutamate-induced neuronal death: A succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function // *Neuron*. - 1995. - Vol. 15, № 4. - P. 961–973.

145. Arango-Dávila C.A., Vera A., Londoño A.C. et al. Soluble or soluble/membrane TNF-alpha inhibitors protect the brain from focal ischemic injury in rats // *International Journal of Neuroscience*. - 2015. - Vol. 125, № 12. - P. 936–940.

146. Armstead W.M., Riley J., Yarovoi S. et al. Tissue-Type Plasminogen Activator-A^{296–299} Prevents Impairment of Cerebral Autoregulation After Stroke Through Lipoprotein-Related Receptor-Dependent Increase in cAMP and p38 // *Stroke*. - 2016. - Vol. 47, № 8. - P. 2096–2102.

147. Armstead W.M., Hekierski H., Pastor P. et al. Release of IL-6 After Stroke Contributes to Impaired Cerebral Autoregulation and Hippocampal Neuronal Necrosis Through NMDA Receptor Activation and Upregulation of ET-1 and JNK // *Translational Stroke Research*. - 2019. - Vol. 10, № 1. - P. 104–111.

148. Arumugam T.V., Baik S.-H., Balaganapathy P. et al. Notch signaling and neuronal death in stroke // *Progress in Neurobiology*. - 2018. - Vol.165–167. - P. 103–116.
149. van Asten S.D., Unger P.-P., Marsman C. et al. Soluble FAS Ligand Enhances Suboptimal CD40L/IL-21-Mediated Human Memory B Cell Differentiation into Antibody-Secreting Cells // *The Journal of Immunology*. - 2021. - Vol. 207, № 2. - P. 449–458.
150. Augello C.J., Noll J.M., Distel T.J. et al. Identification of novel blood biomarker panels to detect ischemic stroke in patients and their responsiveness to therapeutic intervention // *Brain Research*. - 2018. - Vol.1698. - P. 161–169.
151. Avdeev D.B., Stepanov S.S., Gorbunova A.V. et al. Immunohistochemical Signs of Apoptosis and Neuroplasticity in the Cerebral Cortex of White Rats after Occlusion of the Common Carotid Arteries // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. - 2020. - Vol. 50, № 6. - P. 804–809.
152. Bachis A., Cruz M.I., Nosheny R.L., Mocchetti I. Chronic unpredictable stress promotes neuronal apoptosis in the cerebral cortex // *Neuroscience Letters*. - 2008. - Vol. 442, № 2. - P. 104–108.
153. Bajou K., Peng H., Laug W.E. et al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Protects Endothelial Cells from FasL-Mediated Apoptosis // *Cancer Cell*. - 2008. - Vol. 14, № 4. - P. 324–334.
154. Baker C., Worrall L., Rose M. et al. A systematic review of rehabilitation interventions to prevent and treat depression in post-stroke aphasia // *Disability and Rehabilitation*. - 2018. - Vol. 40, № 16. - P. 1870–1892.
155. Balaganapathy P., Baik S.-H., Mallilankaraman K. et al. Interplay between Notch and p53 promotes neuronal cell death in ischemic stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2018. - Vol. 38, № 10. - P. 1781–1795.
156. Banasiak K.J., Xia Y., Haddad G.G. Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis // *Progress in Neurobiology*. - 2000. - Vol. 62, № 3. - P. 215–249.

157. Banks J.L., Marotta C.A. Outcomes Validity and Reliability of the Modified Rankin Scale: Implications for Stroke Clinical Trials // *Stroke*. - 2007. - Vol. 38, № 3. - P. 1091–1096.
158. Barinaga M. Stroke-Damaged Neurons May Commit Cellular Suicide // *Science*. - 1998. - Vol. 281, № 5381. - P. 1302–1303.
159. Barugh A.J., Gray P., Shenkin S.D. et al. Cortisol levels and the severity and outcomes of acute stroke: a systematic review // *Journal of Neurology*. - 2014. - Vol. 261, № 3. - P. 533–545.
160. Batool K., Ehsan S., Maqsood U., Arshad H.S. Effect of depression on stroke specific quality of life: A survey in urban settings of Lahore City // *Electronic Journal of Biology*. - 2017. - Vol. 13, № 4. - P. 391–394.
161. Becker K. Autoimmune Responses to Brain Following Stroke // *Translational Stroke Research*. - 2012. - Vol. 3, № 3. - P. 310–317.
162. Becker K.J., Kalil A.J., Tanzi P. et al. Autoimmune Responses to the Brain After Stroke Are Associated With Worse Outcome // *Stroke*. - 2011. - Vol. 42, № 10. - P. 2763–2769.
163. Beier C.P., Wischhusen J., Gleichmann M. et al. FasL (CD95L/APO-1L) Resistance of Neurons Mediated by Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt/Protein Kinase B-Dependent Expression of Lifeguard/Neuronal Membrane Protein 35 // *Journal of Neuroscience*. - 2005. - Vol. 25, № 29. - P. 6765–6774.
164. Beker M.C., Caglayan B., Yalcin E. et al. Time-of-Day Dependent Neuronal Injury After Ischemic Stroke: Implication of Circadian Clock Transcriptional Factor Bmal1 and Survival Kinase AKT // *Molecular Neurobiology*. - 2018. - Vol. 55, № 3. - P. 2565–2576.
165. Benarroch E.E. Microglia: Multiple roles in surveillance, circuit shaping, and response to injury // *Neurology*. - 2013. - Vol. 81, № 12. - P. 1079–1088.
166. Bettermann K., Sinha K., Kumari R., Simpson I. The Stress-Immune Response in Acute Hyperglycemic Stroke // *Medical Research Archives*. - 2020. - Vol. 8, № 4. - P. 1–14.

167. Beurel E., Toups M., Nemeroff C.B. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble // *Neuron*. - 2020. - Vol. 107, № 2. - P. 234–256.
168. Bhattacharya A., Ashouri R., Fangman M. et al. Soluble Receptors Affecting Stroke Outcomes: Potential Biomarkers and Therapeutic Tools // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2021. - Vol. 22, № 3. - P. 1108(1)-1108(17).
169. Bień K., Sokołowska J., Baska P. et al. Fas/FasL Pathway Participates in Regulation of Antiviral and Inflammatory Response during Mousepox Infection of Lungs // *Mediators of Inflammation*. - 2015. - Vol.2015. - P. 1–13.
170. de Bivort B.L., Guo H.-F., Zhong Y. Notch Signaling Is Required for Activity-Dependent Synaptic Plasticity at the *Drosophila* Neuromuscular Junction // *Journal of Neurogenetics*. - 2009. - Vol. 23, № 4. - P. 395–404.
171. Blanco-Colio L.M., Martín-Ventura J.L., de Teresa E. et al. Increased Soluble Fas Plasma Levels in Subjects at High Cardiovascular Risk // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. - 2007. - Vol. 27, № 1. - P. 168–174.
172. Blanco-Pérez C. Competition, Cooperation, and the Mechanisms of Mental Activity // *Frontiers in Psychology*. - 2018. - Vol.9. - P. 1352(1)-1352(3).
173. Blankenberg F.G., Kalinyak J., Liu L. et al. 99mTc-HYNIC-annexin V SPECT imaging of acute stroke and its response to neuroprotective therapy with anti-Fas ligand antibody // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. - 2006. - Vol. 33, № 5. - P. 566–574.
174. Blanquie O., Yang J.-W., Kilb W. et al. Electrical activity controls area-specific expression of neuronal apoptosis in the mouse developing cerebral cortex // *eLife*. - 2017. - Vol.6. - P. e27696.
175. Blecharz-Lang K.G., Wagner J., Fries A. et al. Interleukin 6-Mediated Endothelial Barrier Disturbances Can Be Attenuated by Blockade of the IL6 Receptor Expressed in Brain Microvascular Endothelial Cells // *Translational Stroke Research*. - 2018. - Vol. 9, № 6. - P. 631–642.

176. Bokhari F.A., Shakoori T.A., Butt A., Ghafoor F. TNF-alpha: a risk factor for ischemic stroke. // Journal of Ayub Medical College, Abbottabad: JAMC. - 2014. - Vol. 26, № 2. - P. 111–114.
177. Boland K., Flanagan L., Prehn J.H. Paracrine control of tissue regeneration and cell proliferation by Caspase-3 // Cell Death & Disease. - 2013. - Vol. 4, № 7. - P. e725–e725.
178. Borsini A., Zunszain P.A., Thuret S., Pariante C.M. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis // Trends in Neurosciences. - 2015. - Vol. 38, № 3. - P. 145–157.
179. Bouwstra H., Smit E.B., Wattel E.M. et al. Measurement Properties of the Barthel Index in Geriatric Rehabilitation // Journal of the American Medical Directors Association. - 2019. - Vol. 20, № 4. - P. 420-425.e1.
180. Breunig J.J., Silbereis J., Vaccarino F.M. et al. Notch regulates cell fate and dendrite morphology of newborn neurons in the postnatal dentate gyrus // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2007. - Vol. 104, № 51. - P. 20558–20563.
181. Brott T., Adams H.P., Olinger C.P. et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. // Stroke. - 1989. - Vol. 20, № 7. - P. 864–870.
182. Bruineberg J., Rietveld E. What's Inside Your Head Once You've Figured Out What Your Head's Inside Of // Ecological Psychology. - 2019. - Vol. 31, № 3. - P. 198–217.
183. Buma F., Kwakkel G., Ramsey N. Understanding upper limb recovery after stroke // Restorative Neurology and Neuroscience. - 2013. - Vol. 31, № 6. - P. 707–722.
184. . Buono V.L., Corallo F., Bramanti P., Marino S. Coping strategies and health-related quality of life after stroke // Journal of Health Psychology. - 2017. - Vol. 22, № 1. - P. 16–28.

185. Cai W., Zhang K., Li P. et al. Dysfunction of the neurovascular unit in ischemic stroke and neurodegenerative diseases: An aging effect // *Ageing Research Reviews*. - 2017. - Vol.34. - P. 77–87.
186. Carayon-Sainfort P. The use of computers in offices: Impact on task characteristics and worker stress // *International Journal of Human-Computer Interaction*. - 1992. - Vol. 4, № 3. - P. 245–261.
187. Castilla-Guerra L., Fernandez Moreno M.del C., Esparrago-Llorca G., Colmenero-Camacho M.A. Pharmacological management of post-stroke depression // *Expert Review of Neurotherapeutics*. - 2020. - Vol. 20, № 2. - P. 157–166.
188. Cebolla A.M., Cheron G. Understanding Neural Oscillations in the Human Brain: From Movement to Consciousness and Vice Versa // *Frontiers in Psychology*. - 2019. - Vol.10. - P. 1930(10-1930(6).
189. Chakrabandhu K., Huault S., Garmy N. et al. The extracellular glycosphingolipid-binding motif of Fas defines its internalization route, mode and outcome of signals upon activation by ligand // *Cell Death & Differentiation*. - 2008. - Vol. 15, № 12. - P. 1824–1837.
190. Chang L., Zhang W., Shi S. et al. microRNA-195 attenuates neuronal apoptosis in rats with ischemic stroke through inhibiting KLF5-mediated activation of the JNK signaling pathway // *Molecular Medicine*. - 2020. - Vol. 26, № 1. - P. 1–16.
191. Chatterjee N., Sanphui P., Kemeny S. et al. Role and regulation of Cdc25A phosphatase in neuron death induced by NGF deprivation or β -amyloid // *Cell Death Discovery*. - 2016. - Vol. 2, № 1. - P. 16083(1)-16083(13).
192. Chaturvedi P., Tiwari V., Singh A. et al. Depression impedes neuroplasticity and quality of life after stroke // *Journal of Family Medicine and Primary Care*. - 2020. - Vol. 9, № 8. - P. 4039–4044.
193. Chelluboina B., Klopfenstein J.D., Gujrati M. et al. Temporal Regulation of Apoptotic and Anti-apoptotic Molecules After Middle Cerebral

Artery Occlusion Followed by Reperfusion // *Molecular Neurobiology*. - 2014. - Vol. 49, № 1. - P. 50–65.

194. Chen A.-Q., Fang Z., Chen X.-L. et al. Microglia-derived TNF- α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain–barrier disruption after ischemic stroke // *Cell Death & Disease*. - 2019. - Vol. 10, № 7. - P. 487.

195. . Chen B., Lin W., Qi W. et al. Cofilin Inhibition by Limk1 Reduces Rod Formation and Cell Apoptosis after Ischemic Stroke // *Neuroscience*. - 2020. - Vol.444. - P. 64–75.

196. Chen H., Shi M., Zhang H. et al. Different Patterns of Functional Connectivity Alterations Within the Default-Mode Network and Sensorimotor Network in Basal Ganglia and Pontine Stroke // *Medical Science Monitor*. - 2019. - Vol.25. - P. 9585–9593.

197. Chen J., Yuan X.-Y., Zhang X. Intracerebral hemorrhage influences hippocampal neurogenesis and neurological function recovery via Notch1 signaling // *NeuroReport*. - 2021. - Vol. 32, № 6. - P. 489–497.

198. Chen M., Wang F., Wang H. Silencing of lncRNA XLOC_035088 Protects Middle Cerebral Artery Occlusion-Induced Ischemic Stroke by Notch1 Signaling // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. - 2021. - Vol. 80, № 1. - P. 60–70.

199. Chen P., Gao S., Wang Y. et al. Classifying Ischemic Stroke, from TOAST to CISS // *CNS Neuroscience & Therapeutics*. - 2012. - Vol. 18, № 6. - P. 452–456.

200. Chen X., Yu X., Wang Y. et al. Soluble Fas/FasL are elevated in the serum and cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis // *Parasitology Research*. - 2017. - Vol. 116, № 11. - P. 3027–3036.

201. Cheng X., Yu Z., Xu J. et al. Pathophysiological Changes and the Role of Notch-1 Activation After Decompression in a Compressive Spinal Cord Injury Rat Model // *Frontiers in Neuroscience*. - 2021. - Vol.15.

202. Cheng Y.-L., Choi Y., Seow W.L. et al. Evidence that neuronal Notch-1 promotes JNK/c-Jun activation and cell death following ischemic stress // *Brain Research*. - 2014. - Vol.1586. - P. 193–202.

203. Chera S., Ghila L., Dobretz K. et al. Apoptotic Cells Provide an Unexpected Source of Wnt3 Signaling to Drive Hydra Head Regeneration // *Developmental Cell*. - 2009. - Vol. 17, № 2. - P. 279–289.

204. Choi C., Benveniste E.N. Fas ligand/Fas system in the brain: regulator of immune and apoptotic responses // *Brain Research Reviews*. - 2004. - Vol. 44, № 1. - P. 65–81.

205. Choudhary S., Chowdhury D., Mishra T.K., Agarwal S. Temporal profile of serum levels of IL-6 in acute ischemic stroke and its relationship with stroke severity and outcome in indian population // *International Journal of Integrative Medical Sciences*. - 2018. - P. 555–560.

206. Christensen H., Boysen G., Christensen E. et al. Plasma cytokines in acute stroke // *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. - 2002. - Vol. 11, № 2. - P. 72–79.

207. Ciacciarelli A., Sette G., Giubilei F., Orzi F. Chronic cerebral hypoperfusion: An undefined, relevant entity // *Journal of Clinical Neuroscience*. - 2020. - Vol.73. - P. 8–12.

208. Cichon N., Synowiec E., Miller E. et al. Effect of Rehabilitation with Extremely Low Frequency Electromagnetic Field on Molecular Mechanism of Apoptosis in Post-Stroke Patients // *Brain Sciences*. - 2020. - Vol. 10, № 5. - P. 266(1)-266(12).

209. Conover J.C., Todd K.L. Development and aging of a brain neural stem cell niche // *Experimental Gerontology*. - 2017. - Vol.94. - P. 9–13.

210. Corallo F., Scarfi C., Arcadi F.A. et al. Role of functional pharmacological therapy in post-stroke depression: a narrative review // *Journal of International Medical Research*. - 2020. - Vol. 48, № 10. - P. 030006052095055(1)-030006052095055(11).

211. Costa R.M., Honjo T., Silva A.J. Learning and Memory Deficits in Notch Mutant Mice // *Current Biology*. - 2003. - Vol. 13, № 15. - P. 1348–1354.

212. Costa-Mattioli M., Walter P. The integrated stress response: From mechanism to disease // *Science*. - 2020. - Vol. 368, № 6489. - P. 1–13.

213. Crotty T.P. The balance between the pro-inflammatory effect of plasma noradrenaline and the anti-inflammatory effect of neuronal noradrenaline determines the peripheral effects of noradrenaline // *Medical Hypotheses*. - 2015. - Vol. 85, № 5. - P. 517–529.

214. Crotty T.P. Ageing is a process where the growth effect of neuronal noradrenaline changes progressively in favour of the flow mediated, neurodegenerative and inflammatory effect of plasma noradrenaline // *Medical Hypotheses*. - 2016. - Vol.93. - P. 106–112.

215. Dai Y., Zhang H., Zhang J., Yan M Isoquercetin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis after ischemia/reperfusion injury via Nrf2-mediated inhibition of the NOX4/ROS/NF- κ B pathway // *Chemico-Biological Interactions*. - 2018. - Vol.284. - P. 32–40.

216. D'Amelio M., Cavallucci V., Cecconi F. Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death // *Cell Death & Differentiation*. - 2010. - Vol. 17, № 7. - P. 1104–1114.

217. D'Arcy M.S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy // *Cell Biology International*. - 2019. - Vol. 43, № 6. - P. 582–592.

218. Das J., G.K. R. Post stroke depression: The sequelae of cerebral stroke // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. - 2018. - Vol.90. - P. 104–114.

219. Datta A., Sarmah D., Mounica L. et al. Cell Death Pathways in Ischemic Stroke and Targeted Pharmacotherapy // *Translational Stroke Research*. - 2020. - Vol. 11, № 6. - P. 1185–1202.

220. Daulatzai M.A. Cerebral hypoperfusion and glucose hypometabolism: Key pathophysiological modulators promote neurodegeneration, cognitive

impairment, and Alzheimer's disease // Journal of Neuroscience Research. - 2017. - Vol. 95, № 4. - P. 943–972.

221. Dawson T.M., Dawson V.L. Excitotoxic Programmed Cell Death Involves Caspase-Independent Mechanisms Cham: Springer International Publishing, 2018. - P. 3–17.

222. Demers M., Varghese R., Winstein C.J. Retrospective Exploratory Analysis of Task-Specific Effects on Brain Activity after Stroke // medRxiv. - 2021.

223. Denaxa M., Neves G., Rabinowitz A. et al. Modulation of Apoptosis Controls Inhibitory Interneuron Number in the Cortex // Cell Reports. - 2018. - Vol. 22, № 7. - P. 1710–1721.

224. Deng X., Chen B., Wang B. et al. TNF- α Mediates the Intrinsic and Extrinsic Pathway in Propofol-Induced Neuronal Apoptosis Via PI3K/Akt Signaling Pathway in Rat Prefrontal Cortical Neurons // Neurotoxicity Research. - 2017. - Vol. 32, № 3. - P. 409–419.

225. Deng Y., He H., Yang L., Zhang P. Dynamic changes in neuronal autophagy and apoptosis in the ischemic penumbra following permanent ischemic stroke // Neural Regeneration Research. - 2016. - Vol. 11, № 7. - P. 1108–1114.

226. Desbarats J., Birge R.B., Mimouni-Rongy M. et al. Fas engagement induces neurite growth through ERK activation and p35 upregulation // Nature Cell Biology. - 2003. - Vol. 5, № 2. - P. 118–125.

227. DeVries A.C., Joh H.-D., Bernard O. et al. Social stress exacerbates stroke outcome by suppressing Bcl-2 expression // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2001. - Vol. 98, № 20. - P. 11824–11828.

228. Dillen Y., Kemps H., Gervois P. et al. Adult Neurogenesis in the Subventricular Zone and Its Regulation After Ischemic Stroke: Implications for Therapeutic Approaches // Translational Stroke Research. - 2020. - Vol. 11, № 1. - P. 60–79.

229. Doll D.N., Rellick S.L., Barr T.L. et al. Rapid mitochondrial dysfunction mediates TNF-alpha-induced neurotoxicity // Journal of Neurochemistry. - 2015. - Vol. 132, № 4. - P. 443–451.

230. Drapeau M., Blake E., Dobson K.S., Körner A Coping strategies in major depression and over the course of cognitive therapy for depression // Canadian Journal of Counselling and Psychotherapy. - 2017. - Vol. 51, № 1. - P. 18–39.

231. Du J., Yang F., Zhang Z. et al. Early functional MRI activation predicts motor outcome after ischemic stroke: a longitudinal, multimodal study // Brain Imaging and Behavior. - 2018. - Vol. 12, № 6. - P. 1804–1813.

232. Duris K., Splichal Z., Jurajda M. The Role of Inflammatory Response in Stroke Associated Programmed Cell Death // Current Neuropharmacology. - 2018. - Vol. 16, № 9. - P. 1365–1374.

233. Dzyubenko E., Manrique-Castano D., Kleinschnitz C. et al. Topological remodeling of cortical perineuronal nets in focal cerebral ischemia and mild hypoperfusion // Matrix Biology. - 2018. - Vol. 74. - P. 121–132.

234. Echouffo-Tcheugui J.B., Conner S.C., Himali J.J. et al. Circulating cortisol and cognitive and structural brain measures // Neurology. - 2018. - Vol. 91, № 21. - P. e1961–e1970.

235. Edelman G. Neural Darwinism // New Perspectives Quarterly. - 2014. - Vol. 31, № 1. - P. 25–27.

236. Edwards C. Sixty Years after Hench—Corticosteroids and Chronic Inflammatory Disease // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. - 2012. - Vol. 97, № 5. - P. 1443–1451.

237. Efremov Y.M., Grebenik E.A., Sharipov R.R. et al. Viscoelasticity and Volume of Cortical Neurons under Glutamate Excitotoxicity and Osmotic Challenges // Biophysical Journal. - 2020. - Vol. 119, № 9. - P. 1712–1723.

238. Eiraku M., Tohgo A., Ono K. et al. DNER acts as a neuron-specific Notch ligand during Bergmann glial development // Nature Neuroscience. - 2005. - Vol. 8, № 7. - P. 873–880.

239. Eissner G., Kolch W., Scheurich P. Ligands working as receptors: reverse signaling by members of the TNF superfamily enhance the plasticity of the immune system // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. - 2004. - Vol. 15, № 5. - P. 353–366.
240. Elena-Real C.A., Díaz-Quintana A., González-Arzola K. et al. Cytochrome c speeds up caspase cascade activation by blocking 14-3-3 ϵ -dependent Apaf-1 inhibition // *Cell Death & Disease*. - 2018. - Vol. 9, № 3. - P. 365(1)-365(12).
241. Eng L.F. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes // *Journal of Neuroimmunology*. - 1985. - Vol.8. - P. 203–214.
242. Engelmann C., Haenold R. Transcriptional Control of Synaptic Plasticity by Transcription Factor NF- κ B // *Neural Plasticity*. - 2016. - Vol.2016. - P. 1–7.
243. Erturk A., Wang Y., Sheng M. Local Pruning of Dendrites and Spines by Caspase-3-Dependent and Proteasome-Limited Mechanisms // *Journal of Neuroscience*. - 2014. - Vol. 34, № 5. - P. 1672–1688.
244. Espinosa-Oliva A.M., García-Revilla J., Alonso-Bellido I.M., Burguillos M.A. Brainiac Caspases: Beyond the Wall of Apoptosis // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. - 2019. - Vol.13. - P. 500(1)-500(12).
245. Everly G.S., Lating J.M. *The Anatomy and Physiology of the Human Stress Response* New York, NY: Springer New York, 2019. - P. 19–56.
246. Fadeel B., Orrenius S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease // *Journal of Internal Medicine*. - 2005. - Vol. 258, № 6. - P. 479–517.
247. Falkenburger B., Reich A. , The two sides of Faim2--modulation of cell death and regeneration // *Journal of Neurology & Neuromedicine*. - 2017. - Vol. 2, № 1. - P. 14–18.
248. Fan B., Pan W., Wang X. et al. Long noncoding RNA mediates stroke-induced neurogenesis // *Stem Cells*. - 2020. - Vol. 38, № 8. - P. 973–985.

249. Favaloro B., Allocati N., Graziano V. et al. Role of Apoptosis in disease // *Aging*. - 2012. - Vol. 4, № 5. - P. 330–349.

250. Felderhoff-Mueser U., Taylor D.L., Greenwood K. et al. Fas/CD95/APO-1 Can Function as a Death Receptor for Neuronal Cells in Vitro and in Vivo and is Upregulated Following Cerebral Hypoxic-Ischemic Injury to the Developing Rat Brain // *Brain Pathology*. - 2006. - Vol. 10, № 1. - P. 17–29.

251. Feng X., Reini S.A., Richards E. et al. Cortisol stimulates proliferation and apoptosis in the late gestation fetal heart: differential effects of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. - 2013. - Vol. 305, № 4. - P. R343–R350.

252. Feng X., Yu Y., He S. et al. Dying glioma cells establish a proangiogenic microenvironment through a caspase 3 dependent mechanism // *Cancer Letters*. - 2017. - Vol.385. - P. 12–20.

253. Fernando P., Brunette S., Megeney L.A. Neural stem cell differentiation is dependent upon endogenous caspase-3 activity // *The FASEB Journal*. - 2005. - Vol. 19, № 12. - P. 1671–1673.

254. Ferrer I., Planas A.M. Signaling of Cell Death and Cell Survival Following Focal Cerebral Ischemia: Life and Death Struggle in the Penumbra // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. - 2003. - Vol. 62, № 4. - P. 329–339.

255. Ferris J.K., Neva J.L., Francisco B.A., Boyd L.A. Bilateral Motor Cortex Plasticity in Individuals With Chronic Stroke, Induced by Paired Associative Stimulation // *Neurorehabilitation and Neural Repair*. - 2018. - Vol. 32, № 8. - P. 671–681.

256. Fiala J.C. Reconstruct: a free editor for serial section microscopy // *Journal of Microscopy*. - 2005. - Vol. 218, № 1. - P. 52–61.

257. Fiksdal A., Hanlin L., Kuras Y. et al. Associations between symptoms of depression and anxiety and cortisol responses to and recovery from acute stress // *Psychoneuroendocrinology*. - 2019. - Vol.102. - P. 44–52.

258. Filichia E., Shen H., Zhou X. et al. Forebrain neuronal specific ablation of p53 gene provides protection in a cortical ischemic stroke model // *Neuroscience*. - 2015. - Vol.295. - P. 1–10.

259. Fischer S., Gardini E.S., Haas F., Cleare A.J. Polymorphisms in genes related to the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and antidepressant response – Systematic review // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. - 2019. - Vol.96. - P. 182–196.

260. Flusberg D.A., Sorger P.K. Surviving apoptosis: life–death signaling in single cells // *Trends in Cell Biology*. - 2015. - Vol. 25, № 8. - P. 446–458.

261. Fogarty C.E., Diwanji N., Lindblad J.L. et al. Extracellular Reactive Oxygen Species Drive Apoptosis-Induced Proliferation via *Drosophila* Macrophages // *Current Biology*. - 2016. - Vol. 26, № 5. - P. 575–584.

262. Fogarty C.E., Bergmann A. Killers creating new life: caspases drive apoptosis-induced proliferation in tissue repair and disease // *Cell Death & Differentiation*. - 2017. - Vol. 24, № 8. - P. 1390–1400.

263. Fricker M., Tolkovsky A.M., Borutaite V. et al. Neuronal Cell Death // *Physiological Reviews*. - 2018. - Vol. 98, № 2. - P. 813–880.

264. Frøyshov H.M., Bjørnerem Å., Engstad T., Halvorsen D.S. Elevated inflammatory markers predict mortality in long-term ischemic stroke-survivors: a population-based prospective study // *Aging Clinical and Experimental Research*. - 2017. - Vol. 29, № 3. - P. 379–385.

265. Fuchs Y., Steller H. Programmed Cell Death in Animal Development and Disease // *Cell*. - 2011. - Vol. 147, № 4. - P. 742–758.

266. Fujikawa D.G. Confusion between neuronal apoptosis and activation of programmed cell death mechanisms in acute necrotic insults // *Trends in Neurosciences*. - 2000. - Vol. 23, № 9. - P. 410–411.

267. Fure B., Wyller T.B., Thommessen B. TOAST criteria applied in acute ischemic stroke // *Acta Neurologica Scandinavica*. - 2005. - Vol. 112, № 4. - P. 254–258.

268. Furlan J., Vergouwen M., Silver F. White Blood Cell Count as a Marker of Stroke Severity and Clinical Outcomes after Acute Ischemic Stroke (P03.011) // *Neurology*. - 2012. - Vol. 78, № 1. - P. P03.011-P03.011.

269. Gama V., Swahari V., Schafer J. et al. The E3 ligase PARC mediates the degradation of cytosolic cytochrome c to promote survival in neurons and cancer cells // *Science Signaling*. - 2014. - Vol. 7, № 334. - P. ra67–ra67.

270. Gao Y.-J., Ji R.-R. c-Fos or pERK, Which is a Better Marker for Neuronal Activation and Central Sensitization After Noxious Stimulation and Tissue Injury? // *The Open Pain Journal*. - 2009. - Vol. 2, № 1. - P. 11–17.

271. García-Bueno B., Caso J.R., Leza J.P. Stress as a neuroinflammatory condition in brain: Damaging and protective mechanisms // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. - 2008. - Vol. 32, № 6. - P. 1136–1151.

272. Gauthier L.V., Kane C., Borstad A. et al. Video Game Rehabilitation for Outpatient Stroke (VIGoROUS): protocol for a multi-center comparative effectiveness trial of in-home gamified constraint-induced movement therapy for rehabilitation of chronic upper extremity hemiparesis // *BMC Neurology*. - 2017. - Vol. 17, № 1. - P. 109(1)-109(18).

273. Ge X., Hannan F., Xie Z. et al. Notch signaling in *Drosophila* long-term memory formation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2004. - Vol. 101, № 27. - P. 10172–10176.

274. Gelderblom M., Leypoldt F., Steinbach K. et al. Temporal and Spatial Dynamics of Cerebral Immune Cell Accumulation in Stroke // *Stroke*. - 2009. - Vol. 40, № 5. - P. 1849–1857.

275. Givogri M.I., Planell de M., Galbiati F. et al. Notch Signaling in Astrocytes and Neuroblasts of the Adult Subventricular Zone in Health and after Cortical Injury // *Developmental Neuroscience*. - 2006. - Vol. 28, № 1–2. - P. 81–91.

276. Glushakova O., Glushakov A., Wijesinghe D. et al. Prospective clinical biomarkers of caspase-mediated apoptosis associated with neuronal and neurovascular damage following stroke and other severe brain injuries:

Implications for chronic neurodegeneration // *Brain Circulation*. - 2017. - Vol. 3, № 2. - P. 87–108.

277. Golubczyk D., Kalkowski L., Kwiatkowska J. et al. Endovascular model of ischemic stroke in swine guided by real-time MRI // *Scientific Reports*. - 2020. - Vol. 10, № 1. - P. 1–10.

278. Gordon G.R.J., Choi H.B., Rungta R.L. et al. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles // *Nature*. - 2008. - Vol. 456, № 7223. - P. 745–749.

279. Gough P., Myles I.A. Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects // *Frontiers in Immunology*. - 2020. - Vol.11. - P. 585880(1)-585880(14).

280. Grech L.B., Kiropoulos L.A., Kirby K.M. et al. Target Coping Strategies for Interventions Aimed at Maximizing Psychosocial Adjustment in People with Multiple Sclerosis // *International Journal of MS Care*. - 2018. - Vol. 20, № 3. - P. 109–119.

281. Gredal H., Thomsen B.B., Boza-Serrano A. et al. Interleukin-6 is increased in plasma and cerebrospinal fluid of community-dwelling domestic dogs with acute ischaemic stroke // *NeuroReport*. - 2017. - Vol. 28, № 3. - P. 134–140.

282. Green D.R., Galluzzi L., Kroemer G. Mitochondria and the Autophagy–Inflammation–Cell Death Axis in Organismal Aging // *Science*. - 2011. - Vol. 333, № 6046. - P. 1109–1112.

283. Gregory-Ksander M., Perez V.L., Marshak-Rothstein A., Ksander B.R. Soluble Fas ligand blocks destructive corneal inflammation in mouse models of corneal epithelial debridement and LPS induced keratitis // *Experimental Eye Research*. - 2019. - Vol.179. - P. 47–54.

284. Grell M., Wajant H., Zimmermann G., Scheurich P. The type 1 receptor (CD120a) is the high-affinity receptor for soluble tumor necrosis factor // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 1998. - Vol. 95, № 2. - P. 570–575.

285. Grønhøj M.H., Clausen B.H., Fenger C.D. et al. Beneficial potential of intravenously administered IL-6 in improving outcome after murine experimental stroke // *Brain, Behavior, and Immunity*. - 2017. - Vol.65. - P. 296–311.

286. Grosjean M.B., Lenzlinger P.M., Stahel P.F. et al. Immunohistochemical characterization of Fas (CD95) and Fas Ligand (FasL/CD95L) expression in the injured brain: relationship with neuronal cell death and inflammatory mediators. // *Histology and histopathology*. - 2007. - Vol. 22, № 3. - P. 235–250.

287. Gu L., Jian Z., Stary C., Xiong X. T Cells and Cerebral Ischemic Stroke // *Neurochemical Research*. - 2015. - Vol. 40, № 9. - P. 1786–1791.

288. Guégan J.P., Ginestier C., Charafe-Jauffret E. et al. CD95/Fas and metastatic disease: What does not kill you makes you stronger // *Seminars in Cancer Biology*. - 2020. - Vol.60. - P. 121–131.

289. Gui-bin W. Effect of salvianolate therapy on peripheral blood Bcl-2, BAX and Caspase-3 expression in patients with cerebral ischemic stroke and their correlation with neural function // *Journal of Hainan Medical University*. - 2017. - Vol. 23, № 9. - P. 138–142.

290. Gulieva M.S., Bagmanian S.D., Chukanova A.S., Chukanova E.I. The role of blood biomarkers in predicting the outcome of ischemic stroke // *Consilium Medicum*. - 2020. - Vol. 22, № 9. - P. 28–32.

291. Guo M., Lin V., Davis W. et al. Preischemic Induction of TNF- α by Physical Exercise Reduces Blood-Brain Barrier Dysfunction in Stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2008. - Vol. 28, № 8. - P. 1422–1430.

292. Györfy B.A., Kun J., Török G. et al. Local apoptotic-like mechanisms underlie complement-mediated synaptic pruning // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2018. - Vol. 115, № 24. - P. 6303–6308.

293. Haase G., Pettmann B., Raoul C., Henderson C.E. Signaling by death receptors in the nervous system // *Current Opinion in Neurobiology*. - 2008. - Vol. 18, № 3. - P. 284–291.

294. Haba-Rubio J., Ouanes S., Franc Y. et al. Do diurnal cortisol levels mediate the association between sleep disturbances and cognitive impairment? // *Neurobiology of Aging*. - 2018. - Vol.69. - P. 65–67.
295. Habib P., Stamm A.-S., Zeyen T. et al. EPO regulates neuroprotective Transmembrane BAX Inhibitor-1 Motif-containing (TMBIM) family members GRINA and FAIM2 after cerebral ischemia-reperfusion injury // *Experimental Neurology*. - 2019. - Vol.320. - P. 112978.
296. Hackett M.L., Yapa C., Parag V., Anderson C.S. Frequency of Depression After Stroke: a systematical review of observational studies // *Stroke*. - 2005. - Vol. 36, № 6. - P. 1330–1340.
297. Hackett M.L., Anderson C.S., House A., Halteh C. Interventions for preventing depression after stroke // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. - 2008.
298. Hanafi M.H., Kassim N.K., Ibrahim A.H. et al. Cortical Modulation After Two Different Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Protocols in Similar Ischemic Stroke Patients // *Malaysian Journal of Medical Sciences*. - 2018. - Vol. 25, № 2. - P. 116–125.
299. Hara M.R., Kovacs J.J., Whalen E.J. et al. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1 // *Nature*. - 2011. - Vol. 477, № 7364. - P. 349–353.
300. al Harrach M., Rousseau F., Groeschel S. et al. Alterations in Cortical Morphology after Neonatal Stroke: Compensation in the Contralesional Hemisphere? // *Developmental Neurobiology*. - 2019. - Vol. 79, № 4. - P. 303–316.
301. Harvey D.Y., Podell J., Turkeltaub P.E. et al. Functional Reorganization of Right Prefrontal Cortex Underlies Sustained Naming Improvements in Chronic Aphasia via Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation // *Cognitive and Behavioral Neurology*. - 2017. - Vol. 30, № 4. - P. 133–144.

302. Hasegawa Y., Cheng C., Hayashi K. et al. Anti-apoptotic effects of BDNF-TrkB signaling in the treatment of hemorrhagic stroke // *Brain Hemorrhages*. - 2020. - Vol. 1, № 2. - P. 124–132.

303. Haynes S.G., Levine S., Scotch N. et al. The relationship of psychosocial factors to coronary heart disease in the framingham study // *American Journal of Epidemiology*. - 1978. - Vol. 107, № 5. - P. 362–383.

304. He Z., Ning N., Zhou Q. et al. Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke // *Free Radical Biology and Medicine*. - 2020. - Vol.146. - P. 45–58.

305. Heffer T., Willoughby T. A count of coping strategies: A longitudinal study investigating an alternative method to understanding coping and adjustment // *PLOS ONE*. - 2017. - Vol. 12, № 10. - P. e0186057.

306. Heldner M.R., Zubler C., Mattle H.P. et al. National Institutes of Health Stroke Scale Score and Vessel Occlusion in 2152 Patients With Acute Ischemic Stroke // *Stroke*. - 2013. - Vol. 44, № 4. - P. 1153–1157.

307. Himmerich H., Patsalos O., Lichtblau N. et al. Cytokine Research in Depression: Principles, Challenges, and Open Questions // *Frontiers in Psychiatry*. - 2019. - Vol.10. - P. 30(1)-30(16).

308. Hollville E., Romero S.E., Deshmukh M. Apoptotic cell death regulation in neurons // *The FEBS Journal*. - 2019. - Vol. 286, № 17. - P. 3276–3298.

309. Horvath K.M., Ábrahám I.M., Harkany T. et al. Postnatal treatment with ACTH-(4-9) analog ORG 2766 attenuates N-methyl-d-aspartate-induced excitotoxicity in rat nucleus basalis in adulthood // *European Journal of Pharmacology*. - 2000. - Vol. 405, № 1–3. - P. 33–42.

310. Hu X., Li P., Guo Y. et al. Microglia/Macrophage Polarization Dynamics Reveal Novel Mechanism of Injury Expansion After Focal Cerebral Ischemia // *Stroke*. - 2012. - Vol. 43, № 11. - P. 3063–3070.

311. Hunkin H., King D.L., Zajac I.T. EEG Neurofeedback During Focused Attention Meditation: Effects on State Mindfulness and Meditation Experiences // Mindfulness. - 2021. - Vol. 12, № 4. - P. 841–851.

312. de Mendoza T.H., Perez-Garcia C.G., Kroll T.T. et al. Antiapoptotic protein Lifeguard is required for survival and maintenance of Purkinje and granular cells // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2011. - Vol. 108, № 41. - P. 17189–17194.

313. Ichim G., Tait S.W. G. A fate worse than death: apoptosis as an oncogenic process // Nature Reviews Cancer. - 2016. - Vol. 16, № 8. - P. 539–548.

314. Intiso D., Zarrelli M.M., Lagioia G. et al. Tumor necrosis factor alpha serum levels and inflammatory response in acute ischemic stroke patients // Neurological Sciences. - 2004. - Vol. 24, № 6. - P. 390–396.

315. Iob E., Steptoe A. Cardiovascular Disease and Hair Cortisol: a Novel Biomarker of Chronic Stress // Current Cardiology Reports. - 2019. - Vol. 21, № 10. - P. 116(1)-116(11).

316. Iranmanesh F., Sedighi B., Ziaadini B. Prognostic Value of Cortisol in Patients with Acute Ischemic Stroke // Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. - 2017. - P. e6187(1)-e6187(16).

317. Irwin M.R., Rothermundt M. Clinical psychoneuroimmunology под ред. T. E. Schlaepfer, C. B. Nemeroff, Elsevier - 2012. - P. 211–226.

318. Ishii Y., Yamaizumi A., Kawakami A. et al. Anti-inflammatory effects of noradrenaline on LPS-treated microglial cells: Suppression of NFκB nuclear translocation and subsequent STAT1 phosphorylation // Neurochemistry International. - 2015. - Vol.90. - P. 56–66.

319. Iso H., Maruyama K., Eshak E.S. et al. Blood soluble Fas levels and mortality from cardiovascular disease in middle-aged Japanese: The JACC study // Atherosclerosis. - 2017. - Vol.260. - P. 97–101.

320. Iurlaro R., Muñoz-Pinedo P. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress // The FEBS Journal. - 2016. - Vol. 283, № 14. - P. 2640–2652.

321. Janson J., Rohleder N. Distraction coping predicts better cortisol recovery after acute psychosocial stress // *Biological Psychology*. - 2017. - Vol.128. - P. 117–124.
322. Jauregui P., Onaindia J., Estévez A. Adaptive and Maladaptive Coping Strategies in Adult Pathological Gamblers and Their Mediating Role with Anxious-Depressive Symptomatology // *Journal of Gambling Studies*. - 2017. - Vol. 33, № 4. - P. 1081–1097.
323. Javidi E., Magnus T. Autoimmunity After Ischemic Stroke and Brain Injury // *Frontiers in Immunology*. - 2019. - Vol.10. - P. 686(1)-686(12).
324. Jayaraj R.L., Azimullah S., Beiram R. et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke // *Journal of Neuroinflammation*. - 2019. - Vol. 16, № 1. - P. 142(1)-142(24).
325. Jiang X., Andjelkovic A.V., Zhu L. et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke // *Progress in Neurobiology*. - 2018. - Vol.163–164. - P. 144–171.
326. Jin W.-N., Gonzales R., Feng Y. et al. Brain Ischemia Induces Diversified Neuroantigen-Specific T-Cell Responses That Exacerbate Brain Injury // *Stroke*. - 2018. - Vol. 49, № 6. - P. 1471–1478.
327. Johansson A., Ahren B., Nasman B. et al. Cortisol axis abnormalities early after stroke - relationships to cytokines and leptin // *Journal of Internal Medicine*. - 2000. - Vol. 247, № 2. - P. 179–187.
328. Johnson G., Burvill P.W., Anderson C.S. et al. Screening instruments for depression and anxiety following stroke: experience in the Perth community stroke study // *Acta Psychiatrica Scandinavica*. - 1995. - Vol. 91, № 4. - P. 252–257.
329. Ju F., Ran Y., Zhu L. et al. Increased BBB Permeability Enhances Activation of Microglia and Exacerbates Loss of Dendritic Spines After Transient Global Cerebral Ischemia // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. - 2018. - Vol.12. - P. 236(1)-236(14).

330. Jung Y.-H., Jang J.H., Lee D. et al. Relationships Between Catecholamine Levels and Stress or Intelligence // *Neurochemical Research*. - 2019. - Vol. 44, № 5. - P. 1192–1200.

331. Juszczak G.R., Stankiewicz A.M. Glucocorticoids, genes and brain function // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. - 2018. - Vol.82. - P. 136–168.

332. Kaczmarek L. From c-Fos to MMP-9: In control of synaptic plasticity to produce healthy and diseased mind, a personal view // *Postępy Biochemii*. - 2018. - Vol. 64, № 2. - P. 101–109.

333. Kafadar A.M., Uzan M., Tanriverdi T. et al. Cerebrospinal fluid soluble Fas and Fas ligand levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. Vienna: Springer - 2008. - P. 17–22.

334. Kanazawa T., Kurano T., Ibaraki H. et al. Correction: Therapeutic Effects in a Transient Middle Cerebral Artery Occlusion Rat Model by Nose-To-Brain Delivery of Anti-TNF-Alpha siRNA with Cell-Penetrating Peptide-Modified Polymer Micelles // *Pharmaceutics*. - 2019. - Vol. 11, № 12. - P. 689(1)-689(15).

335. Kang Y.H., Park M.-G., Noh K.-H. et al. Low serum TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) levels are associated with acute ischemic stroke severity // *Atherosclerosis*. - 2015. - Vol. 240, № 1. - P. 228–233.

336. Kempermann G. Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality // *Nature Reviews Neuroscience*. - 2019. - Vol. 20, № 4. - P. 235–245.

337. Kent M., Bardi M., Hazelgrove A. et al. Profiling coping strategies in male and female rats: Potential neurobehavioral markers of increased resilience to depressive symptoms // *Hormones and Behavior*. - 2017. - Vol.95. - P. 33–43.

338. Khoshnam S.E., Winlow W., Farzaneh M. et al. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke // *Neurological Sciences*. - 2017. - Vol. 38, № 7. - P. 1167–1186.

339. Kikuta S., Sakamoto T., Nagayama S. et al. Sensory Deprivation Disrupts Homeostatic Regeneration of Newly Generated Olfactory Sensory

Neurons after Injury in Adult Mice // Journal of Neuroscience. - 2015. - Vol. 35, № 6. - P. 2657–2673.

340. Kim D.H., Lee H.E., Kwon K.J. et al. Early immature neuronal death initiates cerebral ischemia-induced neurogenesis in the dentate gyrus // Neuroscience. - 2015. - Vol.284. - P. 42–54.

341. Kim J.Y., Park J., Chang J.Y. et al. Inflammation after Ischemic Stroke: The Role of Leukocytes and Glial Cells // Experimental Neurobiology. - 2016. - Vol. 25, № 5. - P. 241–251.

342. Kim M., Jung K., Kim I.-S. et al. TNF- α induces human neural progenitor cell survival after oxygen–glucose deprivation by activating the NF- κ B pathway // Experimental & Molecular Medicine. - 2018. - Vol. 50, № 4. - P. 1–14.

343. Kim M., Jung K., Ko Y. et al. TNF- α Pretreatment Improves the Survival and Function of Transplanted Human Neural Progenitor Cells Following Hypoxic-Ischemic Brain Injury // Cells. - 2020. - Vol. 9, № 5. - P. 1195(1)-1195(24).

344. Kim S., Kim N., Lee J. et al. Dynamic Fas signaling network regulates neural stem cell proliferation and memory enhancement // Science Advances. - 2020. - Vol. 6, № 17.

345. Kim S.Y., Han Y.-M., Oh M. et al. DUSP4 Regulates Neuronal Differentiation and Calcium Homeostasis by Modulating ERK1/2 Phosphorylation // Stem Cells and Development. - 2015. - Vol. 24, № 6. - P. 686–700.

346. Klehmet J., Harms H., Richter M. et al. Stroke-induced immunodepression and post-stroke infections: Lessons from the preventive antibacterial therapy in stroke trial // Neuroscience. - 2009. - Vol. 158, № 3. - P. 1184–1193.

347. Kleinschnitz C., Schwab N., Kraft P. et al. Early detrimental T-cell effects in experimental cerebral ischemia are neither related to adaptive immunity nor thrombus formation // Blood. - 2010. - Vol. 115, № 18. - P. 3835–3842.

348. Komiyama J., Nishimura R., Lee H.-Y. et al. Cortisol Is a Suppressor of Apoptosis in Bovine Corpus Luteum1 // *Biology of Reproduction*. - 2008. - Vol. 78, № 5. - P. 888–895.

349. Komlev A.E., Kurilina E.V., Imaev T.E. Critical illness - related corticosteroid insufficiency in patients after cardiac surgery and cardiologic emergencies // *Terapevticheskii arkhiv*. - 2019. - Vol. 91, № 10. - P. 100–105.

350. Konstantinova E.V., Kochetov A.G., Shostak N.A. et al. Characteristics of immune response and inflammatory reaction in atherothrombotic stroke and myocardial infarction // *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. - 2015. - Vol. 115, № 12. Vyp. 2. - P. 48–53.

351. Kosten T.A., Galloway M.P., Duman R.S. et al. Repeated Unpredictable Stress and Antidepressants Differentially Regulate Expression of the Bcl-2 Family of Apoptotic Genes in Rat Cortical, Hippocampal, and Limbic Brain Structures // *Neuropsychopharmacology*. - 2008. - Vol. 33, № 7. - P. 1545–1558.

352. Kotłęga D., Gołąb-Janowska M., Masztalewicz M. et al. The emotional stress and risk of ischemic stroke // *Neurologia i Neurochirurgia Polska*. - 2016. - Vol. 50, № 4. - P. 265–270.

353. Kott J.M., Mooney-Leber S.M., Li J., Brummelte S. Elevated stress hormone levels and antidepressant treatment starting before pregnancy affect maternal care and litter characteristics in an animal model of depression // *Behavioural Brain Research*. - 2018. - Vol. 348. - P. 101–114.

354. Kovalchuk Y.P., Dovban O.O., Kanga A.M., Ushakova G.A. Short-term effect of adrenalin on S-100b and N-CAM level in the different rat brain areas // *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine*. - 2015. - Vol. 6, № 2. - P. 119–124.

355. Kovyazina M.S., Varako N.A., Lyukmanov R.Kh. et al. Neurofeedback in the Rehabilitation of Patients with Motor Disorders after Stroke // *Human Physiology*. - 2019. - Vol. 45, № 4. - P. 444–451.

356. Kraft A.W., Bauer A.Q., Culver J.P., Lee J.-M. Sensory deprivation after focal ischemia in mice accelerates brain remapping and improves functional

recovery through Arc-dependent synaptic plasticity // *Science Translational Medicine*. - 2018. - Vol. 10, № 426.

357. Krishnan A., Kocab A.J., Zacks D.N. et al. A small peptide antagonist of the Fas receptor inhibits neuroinflammation and prevents axon degeneration and retinal ganglion cell death in an inducible mouse model of glaucoma // *Journal of Neuroinflammation*. - 2019. - Vol. 16, № 1. - P. 184(1)-184(15).

358. Kumar A., Rinwa P., Kaur G., Machawal L. Stress: Neurobiology, consequences and management // *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. - 2013. - Vol. 5, № 2. - P. 91–97.

359. Kumar G.L., Rudbeck L. Immunohistochemical staining methods / G. L. Kumar, L. Rudbeck, Dako North America, Incorporated, 2009.

360. Kuriakose D., Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2020. - Vol. 21, № 20. - P. 7609(1)-7609(24).

361. Kwakkel G., Veerbeek J.M., van Wegen E.E.H., Wolf S.L. Constraint-induced movement therapy after stroke // *The Lancet Neurology*. - 2015. - Vol. 14, № 2. - P. 224–234.

362. Kwok M.K., Kawachi I., Rehkopf D., Schooling C.M. The role of cortisol in ischemic heart disease, ischemic stroke, type 2 diabetes, and cardiovascular disease risk factors: a bi-directional Mendelian randomization study // *BMC Medicine*. - 2020. - Vol. 18, № 1. - P. 363(1)-363(14).

363. Lake E.M.R., Bazzigaluppi P., Mester J. et al. Neurovascular unit remodelling in the subacute stage of stroke recovery // *NeuroImage*. - 2017. - Vol.146. - P. 869–882.

364. Lambert C., Landau A.M., Desbarats J. Fas—Beyond Death: A regenerative role for Fas in the nervous system // *Apoptosis*. - 2003. - Vol. 8, № 6. - P. 551–562.

365. Lambertsen K.L., Biber K., Finsen B. Inflammatory Cytokines in Experimental and Human Stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2012. - Vol. 32, № 9. - P. 1677–1698.

366. Lambertsen K.L., Finsen B., Clausen B.H. Post-stroke inflammation—target or tool for therapy? // *Acta Neuropathologica*. - 2019. - Vol. 137, № 5. - P. 693–714.

367. Langhorne P., Coupar F., Pollock A. Motor recovery after stroke: a systematic review // *The Lancet Neurology*. - 2009. - Vol. 8, № 8. - P. 741–754.

368. Lazarus R.S., Folkman S. Transactional theory and research on emotions and coping // *European Journal of Personality*. - 1987. - Vol. 1, № 3. - P. 141–169.

369. Lee C.-J., Wang C.-C., Chen M. et al. Development of an inflammatory tissue-selective chimeric TNF receptor // *Cytokine*. - 2019. - Vol.113. - P. 340–346.

370. Lee H., Shin E.A., Lee J.H. et al. Caspase inhibitors: a review of recently patented compounds (2013-2015) // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. - 2018. - Vol. 28, № 1. - P. 47–59.

371. Lehoux J.-G., Mathieu A., Lavigne P., Fleury A. Adrenocorticotropin regulation of steroidogenic acute regulatory protein // *Microscopy Research and Technique*. - 2003. - Vol. 61, № 3. - P. 288–299.

372. Leigh R., Knutsson L., Zhou J., van Zijl P.C. Imaging the physiological evolution of the ischemic penumbra in acute ischemic stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2018. - Vol. 38, № 9. - P. 1500–1516.

373. Lettau M., Paulsen M., Schmidt H., Janssen O. Insights into the molecular regulation of FasL (CD178) biology // *European Journal of Cell Biology*. - 2011. - Vol. 90, № 6–7. - P. 456–466.

374. Levy M.J.F., Boulle F., Steinbusch H.W. et al. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression // *Psychopharmacology*. - 2018. - Vol. 235, № 8. - P. 2195–2220.

375. Li F., Huang Q., Chen J. et al. Apoptotic Cells Activate the “Phoenix Rising” Pathway to Promote Wound Healing and Tissue Regeneration // *Science Signaling*. - 2010. - Vol. 3, № 110.

376. Li H., Zhu H., Xu C.J., Yuan J. Cleavage of BID by Caspase 8 Mediates the Mitochondrial Damage in the Fas Pathway of Apoptosis // Cell. - 1998. - Vol. 94, № 4. - P. 491–501.
377. Li L., Scott C.A., Rothwell P.M. Trends in Stroke Incidence in High-Income Countries in the 21st Century // Stroke. - 2020. - Vol. 51, № 5. - P. 1372–1380.
378. Li Q., Qiao G., Ma J. et al. Cortical neurogenesis in adult rats after ischemic brain injury: most new neurons fail to mature // Neural Regeneration Research. - 2015. - Vol. 10, № 2. - P. 277–285.
379. Li W., Wei D., Liang J. et al. Comprehensive Evaluation of White Matter Damage and Neuron Death and Whole-Transcriptome Analysis of Rats With Chronic Cerebral Hypoperfusion // Frontiers in Cellular Neuroscience. - 2019. - Vol.13. - P. 310(1)-310(20).
380. Li W.-Z., Li W.-P., Yao Y.-Y. et al. Glucocorticoids increase impairments in learning and memory due to elevated amyloid precursor protein expression and neuronal apoptosis in 12-month old mice // European Journal of Pharmacology. - 2010. - Vol. 628, № 1–3. - P. 108–115.
381. Li X., Zhang C. Comparative efficacy of nine antidepressants in treating Chinese patients with post-stroke depression: A network meta-analysis // Journal of Affective Disorders. - 2020. - Vol.266. - P. 540–548.
382. di Liegro, Schiera, Proia. Physical Activity and Brain Health // Genes. - 2019. - Vol. 10, № 9. - P. 720(1)-720(40).
383. Lin S.-Y., Wang Y.-Y., Chang C.-Y. et al. TNF- α Receptor Inhibitor Alleviates Metabolic and Inflammatory Changes in a Rat Model of Ischemic Stroke // Antioxidants. - 2021. - Vol. 10, № 6. - P. 851.
384. Lin X., Itoga C.A., Taha S. et al. c-Fos mapping of brain regions activated by multi-modal and electric foot shock stress // Neurobiology of Stress. - 2018. - Vol.8. - P. 92–102.

385. Lincoln N.B., Brinkmann N., Cunningham S. et al. Anxiety and depression after stroke: a 5 year follow-up // *Disability and Rehabilitation*. - 2013. - Vol. 35, № 2. - P. 140–145.
386. Lindvall O., Kokaia Z. Neurogenesis following Stroke Affecting the Adult Brain // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. - 2015. - Vol. 7, № 11. - P. a019034.
387. Linhartová P., Látalová A., Kóša B. et al. fMRI neurofeedback in emotion regulation: A literature review // *NeuroImage*. - 2019. - Vol.193. - P. 75–92.
388. Lisak R.P., Nedelkoska L., Benjamins J.A. The melanocortin ACTH 1-39 promotes protection of oligodendrocytes by astroglia // *Journal of the Neurological Sciences*. - 2016. - Vol.362. - P. 21–26.
389. Liu L., Kim J.Y., Koike M.A. et al. FasL shedding is reduced by hypothermia in experimental stroke // *Journal of Neurochemistry*. - 2008. - Vol. 106, № 2. - P. 541–550.
390. Liu P.Z., Nusslock R. Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF // *Frontiers in Neuroscience*. - 2018. - Vol.12. - P. 52(1)-52(6).
391. Liu S., Wang Y., Worley P.F. et al. The canonical Notch pathway effector RBP-J regulates neuronal plasticity and expression of GABA transporters in hippocampal networks // *Hippocampus*. - 2015. - Vol. 25, № 5. - P. 670–678.
392. Liu W., Wu W., Lin G. et al. Physical exercise promotes proliferation and differentiation of endogenous neural stem cells via ERK in rats with cerebral infarction // *Molecular Medicine Reports*. - 2018. - Vol. 18, № 2. - P. 1455–1464.
393. Liu Y., Fang Y., Zhang Z. et al. Ferroptosis: An emerging therapeutic target in stroke // *Journal of Neurochemistry*. - 2022. - Vol. 160, № 1. - P. 64–73.
394. Liu Y., Ma S., Qu R. SCLM, total saponins extracted from Chaihu-jia-longgu-muli-tang, reduces chronic mild stress-induced apoptosis in the hippocampus in mice // *Pharmaceutical Biology*. - 2010. - Vol. 48, № 8. - P. 840–848.

395. Lorberboym M., Blankenberg F.G., Sadeh M., Lampl Y. In vivo imaging of apoptosis in patients with acute stroke: Correlation with blood–brain barrier permeability // Brain Research. - 2006. - Vol. 1103, № 1. - P. 13–19.
396. Lorente L., Martín M.M., Pérez-Cejas A. et al. Serum Caspase-3 Levels and Early Mortality of Patients with Malignant Middle Cerebral Artery Infarction // Neurocritical Care. - 2019. - Vol. 31, № 3. - P. 486–493.
397. Lorente L., Martín M.M., Ortiz-López R. et al. Association between serum sFasL concentrations and sepsis mortality // Infectious Diseases. - 2021. - Vol. 53, № 1. - P. 38–43.
398. Lorente L., Martín M.M., Pérez-Cejas A. et al. High Serum Soluble Fas Ligand Levels in Non-survivor Traumatic Brain Injury Patients // Neurocritical Care. - 2021. - Vol. 35, № 1. - P. 249–254.
399. Lorente L., Martín M.M., Ortiz-López R. et al. Association of serum soluble Fas concentrations and mortality of septic patients // Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. - 2021. - Vol. 39, № 10. - P. 493–497.
400. Lossi L. The concept of intrinsic versus extrinsic apoptosis // Biochemical Journal. - 2022. - Vol. 479, № 3. - P. 357–384.
401. Lu Z., Xu S. ERK1/2 MAP kinases in cell survival and apoptosis // IUBMB Life (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life). - 2006. - Vol. 58, № 11. - P. 621–631.
402. Lucassen P.J., Vollmann-Honsdorf G.K., Gleisberg M. et al. Chronic psychosocial stress differentially affects apoptosis in hippocampal subregions and cortex of the adult tree shrew // European Journal of Neuroscience. - 2001. - Vol. 14, № 1. - P. 161–166.
403. Luqman E.M., Widjiati, Mafruchati M. et al. Crosstalk between Necrosis and Apoptosis of Embryonal Cerebral Cortex Neuron Mice (Mus musculus) Caused by Carbofuran Exposure // Research Journal of Pharmacy and Technology. - 2019. - Vol. 12, № 11. - P. 5492(1)-5492(7).

404. Lütolf S., Radtke F., Aguet M. et al. Notch1 is required for neuronal and glial differentiation in the cerebellum // *Development*. - 2002. - Vol. 129, № 2. - P. 373–385.

405. MacHale S.M., O'Rourke S.J., Wardlaw J.M., Dennis M.S. Depression and its relation to lesion location after stroke // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. - 1998. - Vol. 64, № 3. - P. 371–374.

406. Madrigal J.L.M., Caso J.R., García-Bueno B. et al. Noradrenaline induces CX3CL1 production and release by neurons // *Neuropharmacology*. - 2017. - Vol.114. - P. 146–155.

407. Mahovic D., Zurak N., Lakusic N. et al. The dynamics of soluble Fas/APO 1 apoptotic biochemical marker in acute ischemic stroke patients // *Advances in Medical Sciences*. - 2013. - Vol. 58, № 2. - P. 298–303.

408. Majid A. Neuroprotection in Stroke: Past, Present, and Future // *ISRN Neurology*. - 2014. - Vol.2014. - P. 1–17.

409. Malarkannan S. Molecular mechanisms of FasL-mediated 'reverse-signaling' // *Molecular Immunology*. - 2020. - Vol.127. - P. 31–37.

410. Manna P.R., Dyson M.T., Stocco D.M. Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression: present and future perspectives // *Molecular Human Reproduction*. - 2009. - Vol. 15, № 6. - P. 321–333.

411. Margaryan S., Witkiewicz A., Arakelyan A. et al. sFasL-mediated induction of neutrophil activation in patients with type 2 diabetes mellitus // *PLOS ONE*. - 2018. - Vol. 13, № 7. - P. e0201087.

412. Marnane M., Duggan C.A., Sheehan O.C. et al. Stroke Subtype Classification to Mechanism-Specific and Undetermined Categories by TOAST, A-S-C-O, and Causative Classification System // *Stroke*. - 2010. - Vol. 41, № 8. - P. 1579–1586.

413. Martin L. Neuronal cell death in nervous system development, disease, and injury (Review) // *International Journal of Molecular Medicine*. - 2001. - Vol. 7, № 5. - P. 455–478.

414. Martínez J.P., Méndez I., Ruiz-Esteban C. et al. Profiles of Burnout, Coping Strategies and Depressive Symptomatology // *Frontiers in Psychology*. - 2020. - Vol.11. - P. 591(1)-591(7).
415. Martin-Villalba A., Herr I., Jeremias I. et al. CD95 Ligand (Fas-L/APO-1L) and Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand Mediate Ischemia-Induced Apoptosis in Neurons // *The Journal of Neuroscience*. - 1999. - Vol. 19, № 10. - P. 3809–3817.
416. Matsuno M., Horiuchi J., Tully T., Saitoe M. The *Drosophila* cell adhesion molecule Klingon is required for long-term memory formation and is regulated by Notch // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2009. - Vol. 106, № 1. - P. 310–315.
417. Mattson M.P. Apoptosis in neurodegenerative disorders // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. - 2000. - Vol. 1, № 2. - P. 120–130.
418. Medeiros G.C., Roy D., Kontos N., Beach S.R. Post-stroke depression: A 2020 updated review // *General Hospital Psychiatry*. - 2020. - Vol.66. - P. 70–80.
419. Medina J.H., Viola H. ERK1/2: A Key Cellular Component for the Formation, Retrieval, Reconsolidation and Persistence of Memory // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. - 2018. - Vol.11. - P. 361(1)-361(8).
420. Meisel C., Schwab J.M., Prass K. et al. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome // *Nature Reviews Neuroscience*. - 2005. - Vol. 6, № 10. - P. 775–786.
421. Menard C., Pfau M.L., Hodes G.E. et al. Social stress induces neurovascular pathology promoting depression // *Nature Neuroscience*. - 2017. - Vol. 20, № 12. - P. 1752–1760.
422. Meng C., Zhang J.-C., Shi R.-L. et al. Inhibition of interleukin-6 abolishes the promoting effects of pair housing on post-stroke neurogenesis // *Neuroscience*. - 2015. - Vol.307. - P. 160–170.

423. Meng H.-L., Li X.-X., Chen Y.-T. et al. Neuronal Soluble Fas Ligand Drives M1-Microglia Polarization after Cerebral Ischemia // *CNS Neuroscience & Therapeutics*. - 2016. - Vol. 22, № 9. - P. 771–781.

424. Merali Z., Huang K., Mikulis D. et al. Evolution of blood-brain-barrier permeability after acute ischemic stroke // *PLOS ONE*. - 2017. - Vol. 12, № 2. - P. e0171558.

425. Mercille S., Massie B. Induction of apoptosis in nutrient-deprived cultures of hybridoma and myeloma cells // *Biotechnology and Bioengineering*. - 1994. - Vol. 44, № 9. - P. 1140–1154.

426. Merlino G., Smeralda C., Gigli G.L. et al. Stress hyperglycemia is predictive of worse outcome in patients with acute ischemic stroke undergoing intravenous thrombolysis // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. - 2021. - Vol. 51, № 3. - P. 789–797.

427. Metcalfe C., Smith G.D., Wadsworth E. et al. contemporary validation of the Reeder Stress Inventory // *British Journal of Health Psychology*. - 2003. - Vol. 8, № 1. - P. 83–94.

428. Micieli G., Cavallini A. The autonomic nervous system and ischemic stroke: a reciprocal interdependence // *Clinical Autonomic Research*. - 2008. - Vol. 18, № 6. - P. 308–317.

429. Middeldorp J., Hol E.M. GFAP in health and disease // *Progress in Neurobiology*. - 2011. - Vol. 93, № 3. - P. 421–443.

430. de Miguel Z., Vegas O., Garmendia L. et al. Behavioral coping strategies in response to social stress are associated with distinct neuroendocrine, monoaminergic and immune response profiles in mice // *Behavioural Brain Research*. - 2011. - Vol. 225, № 2. - P. 554–561.

431. Milaneschi Y., Kappelmann N., Ye Z. et al. Association of inflammation with depression and anxiety: evidence for symptom-specificity and potential causality from UK Biobank and NESDA cohorts // *Molecular Psychiatry*. - 2021. - Vol.26. - P. 7393–7402.

432. Miri Sargazi T., Mansouri A. Comparison of the effectiveness of mindfulness based on stress reduction therapy and neurofeedback training on the clinical symptoms of individual with generalized anxiety disorder: A clinical trial study // anxiety disorder: A clinical trial study // Journal of Gorgan University of Medical Sciences. - 2019. - Vol. 21, № 2. - P. 1–8.

433. Mitsios N., Gaffney J., Krupinski J. et al. Expression of signaling molecules associated with apoptosis in human ischemic stroke tissue // Cell Biochemistry and Biophysics. - 2007. - Vol. 47, № 1. - P. 73–85.

434. Moench K.M., Breach M.R., Wellman C.L. Chronic stress produces enduring sex- and region-specific alterations in novel stress-induced c-Fos expression // Neurobiology of Stress. - 2019. - Vol.10. - P. 100147.

435. Montellano F.A., Ungethüm K., Ramiro L. et al. Role of Blood-Based Biomarkers in Ischemic Stroke Prognosis // Stroke. - 2021. - Vol. 52, № 2. - P. 543–551.

436. Morales-Medina J.C., Iannitti T., Freeman A., Caldwell H.K. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: The hippocampal pathway. // Behavioural brain research. - 2017. - Vol.317. - P. 562–575.

437. Morgan D., Berggren K.L., Spiess C.D. et al. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase-2 (MK2) and its role in cell survival, inflammatory signaling, and migration in promoting cancer // Molecular Carcinogenesis. - 2022. - Vol. 61, № 2. - P. 173–199.

438. Mortensen J.K., Andersen G. Pharmacological management of post-stroke depression: an update of the evidence and clinical guidance // Expert Opinion on Pharmacotherapy. - 2021. - Vol. 22, № 9. - P. 1157–1166.

439. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2015 Update // Circulation. - 2015. - Vol. 131, № 4. - P. e29–e322.

440. Muddapu V.R., Chakravarthy V.S. Influence of energy deficiency on the subcellular processes of Substantia Nigra Pars Compacta cell for understanding Parkinsonian neurodegeneration // Scientific Reports. - 2021. - Vol. 11, № 1. - P. 1754(1)-1754(36).

441. Muhammad I.F., Borné Y., Melander O. et al. FADD (Fas-Associated Protein With Death Domain), Caspase-3, and Caspase-8 and Incidence of Ischemic Stroke // *Stroke*. - 2018. - Vol. 49, № 9. - P. 2224–2226.
442. Müller J.M., Krauss B., Kaltschmidt C. et al. Hypoxia Induces c-fos Transcription via a Mitogen-activated Protein Kinase-dependent Pathway // *Journal of Biological Chemistry*. - 1997. - Vol. 272, № 37. - P. 23435–23439.
443. Muoio V., Persson P.B., Sendeski M.M. The neurovascular unit - concept review // *Acta Physiologica*. - 2014. - Vol. 210, № 4. - P. 790–798.
444. Murakami Y., Saito K., Hara A. et al. Increases in tumor necrosis factor- α following transient global cerebral ischemia do not contribute to neuron death in mouse hippocampus // *Journal of Neurochemistry*. - 2005. - Vol. 93, № 6. - P. 1616–1622.
445. Musiał K., Zwolińska D. The sFas/sFasL ratio as a novel marker of inflammation in children with chronic kidney disease // *Clinica Chimica Acta*. - 2012. - Vol. 414. - P. 7–11.
446. Naess H., Kurtz M., Thomassen L., Waje-Andreassen U. Serial NIHSS scores in patients with acute cerebral infarction // *Acta Neurologica Scandinavica*. - 2016. - Vol. 133, № 6. - P. 415–420.
447. Nandam L.S., Brazel M., Zhou M., Jhaveri D.J. Cortisol and Major Depressive Disorder—Translating Findings From Humans to Animal Models and Back // *Frontiers in Psychiatry*. - 2020. - Vol. 10. - P. 974(1)-974(15).
448. v.Nguyen T.-V., Frye J.B., Zbesko J.C. et al. Multiplex immunoassay characterization and species comparison of inflammation in acute and non-acute ischemic infarcts in human and mouse brain tissue // *Acta Neuropathologica Communications*. - 2016. - Vol. 4, № 1. - P. 100(1)-100(20).
449. Nippert A.R., Biesecker K.R., Newman E.A. Mechanisms Mediating Functional Hyperemia in the Brain // *The Neuroscientist*. - 2018. - Vol. 24, № 1. - P. 73–83.

450. Nissinen L., Kähäri V.-M. Matrix metalloproteinases in inflammation // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. - 2014. - Vol. 1840, № 8. - P. 2571–2580.

451. Niu F., Zhang X., Hu X. et al. Targeted mutation of Fas ligand gene attenuates brain inflammation in experimental stroke // *Brain, Behavior, and Immunity*. - 2012. - Vol. 26, № 1. - P. 61–71.

452. Nonaka S., Nakanishi H. Microglial clearance of focal apoptotic synapses // *Neuroscience Letters*. - 2019. - Vol. 707. - P. 134317.

453. Norberg E., Orrenius S., Zhivotovsky B. Mitochondrial regulation of cell death: Processing of apoptosis-inducing factor (AIF) // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. - 2010. - Vol. 396, № 1. - P. 95–100.

454. Northington F.J., Zelaya M.E., O’Riordan D.P. et al. Failure to complete apoptosis following neonatal hypoxia–ischemia manifests as “continuum” phenotype of cell death and occurs with multiple manifestations of mitochondrial dysfunction in rodent forebrain // *Neuroscience*. - 2007. - Vol. 149, № 4. - P. 822–833.

455. van Oers C.A.M.M., van der Worp H.B., Kappelle L.J. et al. Etiology of language network changes during recovery of aphasia after stroke // *Scientific Reports*. - 2018. - Vol. 8, № 1. - P. 856(1)-856(12).

456. Offner H., Subramanian S., Parker S.M. et al. Experimental Stroke Induces Massive, Rapid Activation of the Peripheral Immune System // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2006. - Vol. 26, № 5. - P. 654–665.

457. Ohira K., Furuta T., Hioki H. et al. Ischemia-induced neurogenesis of neocortical layer 1 progenitor cells // *Nature Neuroscience*. - 2010. - Vol. 13, № 2. - P. 173–179.

458. Ojaghihaghighi S., Vahdati S.S., Mikaeilpour A., Ramouz A. Comparison of neurological clinical manifestation in patients with hemorrhagic and ischemic stroke // *World Journal of Emergency Medicine*. - 2017. - Vol. 8, № 1. - P. 34–38.

459. O'Reilly L.A., Tai L., Lee L. et al. Membrane-bound Fas ligand only is essential for Fas-induced apoptosis // *Nature*. - 2009. - Vol. 461, № 7264. - P. 659–663.
460. Ortega S.B., Noorbhai I., Poinssatte K. et al. Stroke induces a rapid adaptive autoimmune response to novel neuronal antigens. // *Discovery medicine*. - 2015. - Vol. 19, № 106. - P. 381–392.
461. Ortiz G.A., Sacco R.L. National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2008.
462. Ostapchenko V.G., Snir J., Suchy M. et al. Detection of Active Caspase-3 in Mouse Models of Stroke and Alzheimer's Disease with a Novel Dual Positron Emission Tomography/Fluorescent Tracer [68Ga]Ga-TC3-OGDOTA // *Contrast Media & Molecular Imaging*. - 2019. - Vol.2019. - P. 1–17.
463. Ozaki T., Nakamura H., Kishima H. Therapeutic strategy against ischemic stroke with the concept of neurovascular unit // *Neurochemistry International*. - 2019. - Vol.126. - P. 246–251.
464. Pandit V., Khan M., Zakaria E.R. et al. Continuous remote ischemic conditioning attenuates cognitive and motor deficits from moderate traumatic brain injury // *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. - 2018. - Vol. 85, № 1. - P. 48–53.
465. Paolicelli R.C., Bolasco G., Pagani F. et al. Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development // *Science*. - 2011. - Vol. 333, № 6048. - P. 1456–1458.
466. Paolucci S. Epidemiology and treatment of post-stroke depression // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. - 2008. - P. 145–154.
467. Paolucci S. Advances in antidepressants for treating post-stroke depression // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. - 2017. - Vol. 18, № 10. - P. 1011–1017.
468. Papathanassoglou E.D.E., Mpouzika M.D.A., Giannakopoulou M. et al. Pilot Investigation of the Association Between Serum Stress Neuropeptide Levels

and Lymphocyte Expression of Fas and Fas Ligand in Critical Illness // *Biological Research For Nursing*. - 2015. - Vol. 17, № 3. - P. 285–294.

469. Parkhurst C.N., Yang G., Ninan I. et al. Microglia Promote Learning-Dependent Synapse Formation through Brain-Derived Neurotrophic Factor // *Cell*. - 2013. - Vol. 155, № 7. - P. 1596–1609.

470. Peng Z., Zhang C., Yan L. et al. EPA is More Effective than DHA to Improve Depression-Like Behavior, Glia Cell Dysfunction and Hippocampal Apoptosis Signaling in a Chronic Stress-Induced Rat Model of Depression // *International Journal of Molecular Sciences*. - 2020. - Vol. 21, № 5. - P. 1769.

471. Pennypacker K.R., Offner H. The Role of the Spleen in Ischemic Stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2015. - Vol. 35, № 2. - P. 186–187.

472. Pernet V., Hauswirth W.W., Polo A. di Extracellular signal-regulated kinase 1/2 mediates survival, but not axon regeneration, of adult injured central nervous system neurons in vivo // *Journal of Neurochemistry*. - 2005. - Vol. 93, № 1. - P. 72–83.

473. Petrenko V., Mihhailova J., Salmon P., Kiss J.Z. Apoptotic neurons induce proliferative responses of progenitor cells in the postnatal neocortex // *Experimental Neurology*. - 2015. - Vol.273. - P. 126–137.

474. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. - 2003. - Vol. 14, № 3–4. - P. 185–191.

475. Picard M., McEwen B.S., Epel E.S., Sandi C. An energetic view of stress: Focus on mitochondria // *Frontiers in Neuroendocrinology*. - 2018. - Vol.49. - P. 72–85.

476. Pino A., Fumagalli G., Bifari F., Decimo I. New neurons in adult brain: distribution, molecular mechanisms and therapies // *Biochemical Pharmacology*. - 2017. - Vol.141. - P. 4–22.

477. Pipkin M., Lieberman J. Delivering the kiss of death: progress on understanding how perforin works // *Current Opinion in Immunology*. - 2007. - Vol. 19, № 3. - P. 301–308.

478. Piradov M.A., Chernikova L.A., Suponeva N.A. Brain Plasticity and Modern Neurorehabilitation Technologies // *Herald of the Russian Academy of Sciences*. - 2018. - Vol. 88, № 2. - P. 111–118.

479. Planchez B., Surget A., Belzung C. Adult hippocampal neurogenesis and antidepressants effects // *Current Opinion in Pharmacology*. - 2020. - Vol.50. - P. 88–95.

480. Planells-Ferrer L., Urresti J., Coccia E. et al. Fas apoptosis inhibitory molecules: more than death-receptor antagonists in the nervous system // *Journal of Neurochemistry*. - 2016. - Vol. 139, № 1. - P. 11–21.

481. Plog B.A., Nedergaard M. The Glymphatic System in Central Nervous System Health and Disease: Past, Present, and Future // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. - 2018. - Vol. 13, № 1. - P. 379–394.

482. Portera-Cailliau C., Price D.L., Martin L.J. Excitotoxic neuronal death in the immature brain is an apoptosis-necrosis morphological continuum // *The Journal of Comparative Neurology*. - 1997. - Vol. 378, № 1. - P. 10–87.

483. Portera-Cailliau C., Price D.L., Martin L.J. Non-NMDA and NMDA receptor-mediated excitotoxic neuronal deaths in adult brain are morphologically distinct: Further evidence for an apoptosis-necrosis continuum // *The Journal of Comparative Neurology*. - 1997. - Vol. 378, № 1. - P. 88–104.

484. Prass K., Meisel C., Höflich C. et al. Stroke-induced Immunodeficiency Promotes Spontaneous Bacterial Infections and Is Mediated by Sympathetic Activation Reversal by Poststroke T Helper Cell Type 1–like Immunostimulation // *Journal of Experimental Medicine*. - 2003. - Vol. 198, № 5. - P. 725–736.

485. Psarraki E.E., Kokka I., Bacopoulou F. et al. Is there a relation between major depression and hair cortisol? A systematic review and meta-analysis // *Psychoneuroendocrinology*. - 2021. - Vol.124. - P. 105098.

486. Quinn T.J., Dawson J., Walters M.R., Lees K.R. Reliability of the Modified Rankin Scale // *Stroke*. - 2009. - Vol. 40, № 10. - P. 3393–3395.
487. Radak D., Katsiki N., Resanovic I. et al. Apoptosis and Acute Brain Ischemia in Ischemic Stroke // *Current Vascular Pharmacology*. - 2017. - Vol. 15, № 2. - P. 115–122.
488. Rahmati M., Azarpazhooh M.R., Ehteram H. et al. The elevation of S100B and downregulation of circulating miR-602 in the sera of ischemic stroke (IS) patients: the emergence of novel diagnostic and prognostic markers // *Neurological Sciences*. - 2020. - Vol. 41, № 8. - P. 2185–2192.
489. Ramiro L., Simats A., García-Berrocso T., Montaner J. Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic targets for stroke management // *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. - 2018. - Vol.11. - P. 1–24.
490. Ramiro L., Abaira L., Quintana M. et al. Blood Biomarkers to Predict Long-Term Mortality after Ischemic Stroke // *Life*. - 2021. - Vol. 11, № 2. - P. 135(1)-135(11).
491. Redmond L., Oh S.-R., Hicks C. et al. Nuclear Notch1 signaling and the regulation of dendritic development // *Nature Neuroscience*. - 2000. - Vol. 3, № 1. - P. 30–40.
492. Reeder L.G., Schrama P.G. M., Dirken J.M. Stress and cardiovascular health: An international cooperative study—I // *Social Science & Medicine* (1967). - 1973. - Vol. 7, № 8. - P. 573–584.
493. Regenhardt R.W., Das A.S., Lo E.H., Caplan L.R. Advances in Understanding the Pathophysiology of Lacunar Stroke // *JAMA Neurology*. - 2018. - Vol. 75, № 10. - P. 1273–1281.
494. Reich A., Spering C., Gertz K. et al. Fas/CD95 Regulatory Protein Faim2 Is Neuroprotective after Transient Brain Ischemia // *Journal of Neuroscience*. - 2011. - Vol. 31, № 1. - P. 225–233.

495. Reich A., Spering C., Schulz J.B. Death receptor Fas (CD95) signaling in the central nervous system: tuning neuroplasticity? // Trends in Neurosciences. - 2008. - Vol. 31, № 9. - P. 478–486.

496. Reimertz C., Kögel D., Rami A., Chittenden T., Prehn J.H.M. Gene expression during ER stress-induced apoptosis in neurons: induction of the BH3-only protein Bbc3/PUMA and activation of the mitochondrial apoptosis pathway // Journal of Cell Biology. - 2003. - Vol. 162, № 4. - P. 587–597.

497. Ren C., Han R., Shi J., Ji X. Ischemic Stroke Pathophysiology and Cell Therapy Singapore: Springer Singapore, 2017. - P. 1–36.

498. Ren Z., Zhang R., Li Y. et al. Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo. // International journal of molecular medicine. - 2017. - Vol. 40, № 5. - P. 1444–1456.

499. Reverté-Villarroya S., Dávalos A., Font-Mayolas S. et al. Coping Strategies, Quality of Life, and Neurological Outcome in Patients Treated with Mechanical Thrombectomy after an Acute Ischemic Stroke // International Journal of Environmental Research and Public Health. - 2020. - Vol. 17, № 17. - P. 6014(1)-6014(12).

500. Ribe E.M., Serrano-Saiz E., Akpan N., Troy C.M. Mechanisms of neuronal death in disease: defining the models and the players // Biochemical Journal. - 2008. - Vol. 415, № 2. - P. 165–182.

501. Riccomagno M.M., Kolodkin A.L. Sculpting Neural Circuits by Axon and Dendrite Pruning // Annual Review of Cell and Developmental Biology. - 2015. - Vol. 31, № 1. - P. 779–805.

502. Richardson S., Shaffer J.A., Falzon L. et al. Meta-Analysis of Perceived Stress and Its Association With Incident Coronary Heart Disease // The American Journal of Cardiology. - 2012. - Vol. 110, № 12. - P. 1711–1716.

503. Riethmueller S., Ehlers J.C., Lokau J. et al. Cleavage Site Localization Differentially Controls Interleukin-6 Receptor Proteolysis by ADAM10 and ADAM17 // Scientific Reports. - 2016. - Vol. 6, № 1. - P. 25550(1)-25550(14).

504. Roberts J., de Hoog L., Bix G.J. Mice deficient in endothelial $\alpha 5$ integrin are profoundly resistant to experimental ischemic stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. - 2017. - Vol. 37, № 1. - P. 85–96.

505. Robinson R.G., Spalletta G. Poststroke Depression: A Review // *The Canadian Journal of Psychiatry*. - 2010. - Vol. 55, № 6. - P. 341–349.

506. Rogall R., Rabenstein M., Vay S. et al. Bioluminescence imaging visualizes osteopontin-induced neurogenesis and neuroblast migration in the mouse brain after stroke // *Stem Cell Research & Therapy*. - 2018. - Vol. 9, № 1. - P. 182(1)-182(12).

507. Rosenbaum D.M., Gupta G., D'Amore J. et al. Fas (CD95/APO-1) plays a role in the pathophysiology of focal cerebral ischemia // *Journal of Neuroscience Research*. - 2000. - Vol. 61, № 6. - P. 686–692.

508. Rosenblat J., McIntyre R. Bipolar Disorder and Immune Dysfunction: Epidemiological Findings, Proposed Pathophysiology and Clinical Implications // *Brain Sciences*. - 2017. - Vol. 7, № 12. - P. 144(1)-144(19).

509. Rothaug M., Becker-Pauly P., Rose-John S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. - 2016. - Vol. 1863, № 6. - P. 1218–1227.

510. Roux P.P., Blenis J. ERK and p38 MAPK-Activated Protein Kinases: a Family of Protein Kinases with Diverse Biological Functions // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. - 2004. - Vol. 68, № 2. - P. 320–344.

511. Ruan W., Lee C.T., Desbarats J. A Novel Juxtamembrane Domain in Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Molecules Activates Rac1 and Controls Neurite Growth // *Molecular Biology of the Cell*. - 2008. - Vol. 19, № 8. - P. 3192–3202.

512. Rubinstein A.D., Kimchi A. Life in the balance – a mechanistic view of the crosstalk between autophagy and apoptosis // *Journal of Cell Science*. - 2012. - Vol. 125, № 22. - P. 5259–5268.

513. Russell G., Lightman S. The human stress response // *Nature Reviews Endocrinology*. - 2019. - Vol. 15, № 9. - P. 525–534.

514. Russo E., Nguyen H., Lippert T. et al. Mitochondrial targeting as a novel therapy for stroke // *Brain Circulation*. - 2018. - Vol. 4, № 3. - P. 84–94.

515. de Ryck A., Brouns R., Geurden M. et al. Risk Factors for Poststroke Depression: Identification of inconsistencies based on a systematic review // *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. - 2014. - Vol. 27, № 3. - P. 147–158.

516. Ryoo H.D., Gorenc T., Steller H. Apoptotic Cells Can Induce Compensatory Cell Proliferation through the JNK and the Wingless Signaling Pathways // *Developmental Cell*. - 2004. - Vol. 7, № 4. - P. 491–501.

517. Sagen U., Vik T.G., Moum T. et al. Screening for anxiety and depression after stroke: Comparison of the Hospital Anxiety and Depression Scale and the Montgomery and Åsberg Depression Rating Scale // *Journal of Psychosomatic Research*. - 2009. - Vol. 67, № 4. - P. 325–332.

518. Sagen U., Finset A., Moum T. et al. Early detection of patients at risk for anxiety, depression and apathy after stroke // *General Hospital Psychiatry*. - 2010. - Vol. 32, № 1. - P. 80–85.

519. Sairanen T., Karjalainen-Lindsberg M.-L., Paetau A. et al. Apoptosis dominant in the periinfarct area of human ischaemic stroke—a possible target of antiapoptotic treatments // *Brain*. - 2006. - Vol. 129, № 1. - P. 189–199.

520. Sairanen T., Szepesi R., Karjalainen-Lindsberg M.-L. et al. Neuronal caspase-3 and PARP-1 correlate differentially with apoptosis and necrosis in ischemic human stroke // *Acta Neuropathologica*. - 2009. - Vol. 118, № 4. - P. 541–552.

521. Salehpour F., Farajdokht F., Cassano P. et al. Near-infrared photobiomodulation combined with coenzyme Q10 for depression in a mouse model of restraint stress: reduction in oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis // *Brain Research Bulletin*. - 2019. - Vol.144. - P. 213–222.

522. Sarosiek K.A., Fraser C., Muthalagu N. et al. Developmental Regulation of Mitochondrial Apoptosis by c-Myc Governs Age- and Tissue-

Specific Sensitivity to Cancer Therapeutics // *Cancer Cell*. - 2017. - Vol. 31, № 1. - P. 142–156.

523. Sartor E.A., Albright K., Boehme A.K. et al. The NIHSS Score and its Components can Predict Cortical Stroke. // *Journal of neurological disorders & stroke*. - 2013. - Vol. 2, № 1. - P. 1026(1)-1026(10).

524. Saura C.A., Choi S.-Y., Beglopoulos V. et al. Loss of Presenilin Function Causes Impairments of Memory and Synaptic Plasticity Followed by Age-Dependent Neurodegeneration // *Neuron*. - 2004. - Vol. 42, № 1. - P. 23–36.

525. Savelov A.A., Shtark M.B., Kozlova L.I. et al. Dynamics of Interactions between Cerebral Networks Derived from fMRI Data and Motor Rehabilitation during Stokes // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. - 2019. - Vol. 166, № 3. - P. 399–403.

526. Scheld M., Ruther B.J., Grosse-Veldmann R. et al. Neurodegeneration Triggers Peripheral Immune Cell Recruitment into the Forebrain // *Journal of Neuroscience*. - 2016. - Vol. 36, № 4. - P. 1410–1415.

527. Scherf-Clavel M., Wurst C., Nitschke F. et al. Extent of cortisol suppression at baseline predicts improvement in HPA axis function during antidepressant treatment // *Psychoneuroendocrinology*. - 2020. - Vol.114. - P. 104590.

528. Schuldiner O., Yaron A. Mechanisms of developmental neurite pruning // *Cellular and Molecular Life Sciences*. - 2015. - Vol. 72, № 1. - P. 101–119.

529. Sekerdag E., Solaroglu I., Gursoy-Ozdemir Y. Cell Death Mechanisms in Stroke and Novel Molecular and Cellular Treatment Options // *Current Neuropharmacology*. - 2018. - Vol. 16, № 9. - P. 1396–1415.

530. Sekita-Krzak J., Czerny K., Zebrowska-Łupina I. et al. Neuroprotective effect of ACTH (4-9) in degeneration of hippocampal nerve cells caused by dexamethasone: morphological studies. // *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. Sectio D: Medicina*. - 2002. - Vol. 57, № 2. - P. 245–253.

531. Sergeeva S.P., Gorbacheva L.R., Breslavich I.D., Cherdak M.A. Fas Role in Ischemic Stroke: Not Only in Apoptosis // Journal of Molecular and Genetic Medicine. - 2016. - Vol. 10, № 4. - P. 1–6.

532. Sergeeva S.P., Erofeeva L.M., Balyasin M.V. The morphology of cerebral cortex ganglionic layer in ischemic stroke // Морфология. - 2018. - Vol. 153, № 3 (Приложение). - P. 96–96.

533. Šestan N., Artavanis-Tsakonas S., Rakic P. Contact-Dependent Inhibition of Cortical Neurite Growth Mediated by Notch Signaling // Science. - 1999. - Vol. 286, № 5440. - P. 741–746.

534. Seth A.K., Edelman G.M. Distinguishing Causal Interactions in Neural Populations // Neural Computation. - 2007. - Vol. 19, № 4. - P. 910–933.

535. Seyrek K., Lavrik I.N. Modulation of CD95-mediated signaling by post-translational modifications: towards understanding CD95 signaling networks // Apoptosis. - 2019. - Vol. 24, № 5–6. - P. 385–394.

536. Shan H.-M., Zang M., Zhang Q. et al. Farnesoid X receptor knockout protects brain against ischemic injury through reducing neuronal apoptosis in mice // Journal of Neuroinflammation. - 2020. - Vol. 17, № 1. - P. 164(1)-164(12).

537. Shen Y., Song Z., Lu X. et al. Fas signaling-mediated TH9 cell differentiation favors bowel inflammation and antitumor functions // Nature Communications. - 2019. - Vol. 10, № 1. - P. 2924(1)-2924(14).

538. Shi K., Tian D.-C., Li Z.-G. et al. Global brain inflammation in stroke // The Lancet Neurology. - 2019. - Vol. 18, № 11. - P. 1058–1066.

539. Shi Y. Caspase Activation: Revisiting the Induced Proximity Model // Cell. - 2004. - Vol. 117, № 7. - P. 855–858.

540. Siegel J.S., Seitzman B.A., Ramsey L.E. et al. Re-emergence of modular brain networks in stroke recovery // Cortex. - 2018. - Vol. 101. - P. 44–59.

541. Singh A.K., Phillips F., Merabet L.B., Sinha P. Why Does the Cortex Reorganize after Sensory Loss? // Trends in Cognitive Sciences. - 2018. - Vol. 22, № 7. - P. 569–582.

542. Singh R., Letai A., Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. - 2019. - Vol. 20, № 3. - P. 175–193.

543. Siniscalchi A., Gallelli L., Malferrari G. et al. Cerebral stroke injury: the role of cytokines and brain inflammation // *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. - 2014. - Vol. 25, № 2. - P. 131–137.

544. Smith R.J., Anderson R.I., Haun H.L. et al. Dynamic c-Fos changes in mouse brain during acute and protracted withdrawal from chronic intermittent ethanol exposure and relapse drinking // *Addiction Biology*. - 2020. - Vol. 25, № 6. - P. 1–15.

545. Sobrido-Cameán D., Barreiro-Iglesias A. Role of Caspase-8 and Fas in Cell Death After Spinal Cord Injury // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. - 2018. - Vol.11. - P. 101(1)-101(10).

546. Sofroniew M.V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation // *Trends in Neurosciences*. - 2009. - Vol. 32, № 12. - P. 638–647.

547. Solano-Gálvez S., Abadi-Chiriti J., Gutiérrez-Velez L. et al. Apoptosis: Activation and Inhibition in Health and Disease // *Medical Sciences*. - 2018. - Vol. 6, № 3. - P. 54(1)-54(21).

548. Sommer C.J. Ischemic stroke: experimental models and reality // *Acta Neuropathologica*. - 2017. - Vol. 133, № 2. - P. 245–261.

549. Spetz J., Presser A.G., Sarosiek K.A. T Cells and Regulated Cell Death 2019. - P. 27–71.

550. Spikman J.M., van der Horn H.J., Scheenen M.E. et al. Coping with stress before and after mild traumatic brain injury: a pilot hair cortisol study // *Brain Injury*. - 2021. - Vol. 35, № 8. - P. 871–879.

551. Sremec J., Tomasović S., Tomić Sremec N. et al. Elevated Concentrations of Soluble Fas and FasL in Multiple Sclerosis Patients with Antinuclear Antibodies // *Journal of Clinical Medicine*. - 2020. - Vol. 9, № 12. - P. 3845(1)-3845(12).

552. Starkstein S.E., Hayhow B.D. Treatment of Post-Stroke Depression // Current Treatment Options in Neurology. - 2019. - Vol. 21, № 7. - P. 31.
553. Steinberg L.J., Rubin-Falcone H., Galfalvy H.C. et al. Cortisol Stress Response and in Vivo PET Imaging of Human Brain Serotonin 1A Receptor Binding // International Journal of Neuropsychopharmacology. - 2019. - Vol. 22, № 5. - P. 329–338.
554. Stellwagen D., Malenka R.C. Synaptic scaling mediated by glial TNF- α // Nature. - 2006. - Vol. 440, № 7087. - P. 1054–1059.
555. Stennicke H.R., Jürgensmeier J.M., Shin H. et al. Pro-caspase-3 Is a Major Physiologic Target of Caspase-8 // Journal of Biological Chemistry. - 1998. - Vol. 273, № 42. - P. 27084–27090.
556. Stewart M.G., Davies H.A., Sandi C. et al. Stress suppresses and learning induces plasticity in CA3 of rat hippocampus: A three-dimensional ultrastructural study of thorny excrescences and their postsynaptic densities // Neuroscience. - 2005. - Vol. 131, № 1. - P. 43–54.
557. Straub R.H. Interaction of the endocrine system with inflammation: a function of energy and volume regulation // Arthritis Research & Therapy. - 2014. - Vol. 16, № 1. - P. 203(1)-203(15).
558. Straub R.H., Cutolo M. Glucocorticoids and chronic inflammation // Rheumatology. - 2016. - Vol.55. - № suppl 2. - P. ii6–ii14.
559. Stump G., Durrer A., Klein A.-L. et al. Notch1 and its ligands Delta-like and Jagged are expressed and active in distinct cell populations in the postnatal mouse brain // Mechanisms of Development. - 2002. - Vol. 114, № 1–2. - P. 153–159.
560. Sulter G., Steen C., Jacques De Keyser Use of the Barthel Index and Modified Rankin Scale in Acute Stroke Trials // Stroke. - 1999. - Vol. 30, № 8. - P. 1538–1541.
561. Sun Y., Chen H., Lin Y. Rehabilitation training inhibits neuronal apoptosis by down-regulation of TLR4/MyD88 signaling pathway in mice with

cerebral ischemic stroke. // American journal of translational research. - 2021. - Vol. 13, № 4. - P. 2213–2223.

562. Takahashi H. Darwinian computation with a functional map of the auditory cortex // Acoustical Science and Technology. - 2020. - Vol. 41, № 1. - P. 39–47.

563. Takeshita Y., Obermeier B., Coteleur A. et al. An in vitro blood–brain barrier model combining shear stress and endothelial cell/astrocyte co-culture // Journal of Neuroscience Methods. - 2014. - Vol. 232. - P. 165–172.

564. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. - 2014. - Vol. 6, № 10. - P. a016295–a016295.

565. Tang H., Gamdzyk M., Huang L. et al. Delayed recanalization after MCAO ameliorates ischemic stroke by inhibiting apoptosis via HGF/c-Met/STAT3/Bcl-2 pathway in rats // Experimental Neurology. - 2020. - Vol. 330. - P. 113359.

566. Tang W.K., Ungvari G.S., Chiu H.F.K. et al. Screening post-stroke depression in Chinese older adults using the hospital anxiety and depression scale // Aging & Mental Health. - 2004. - Vol. 8, № 5. - P. 397–399.

567. Tarkowski E., Rosengren L., Blomstrand C. et al. Intrathecal Expression of Proteins Regulating Apoptosis in Acute Stroke // Stroke. - 1999. - Vol. 30, № 2. - P. 321–327.

568. Taylor J.M., Zhu X.-H., Zhang Y., Chen W. Dynamic correlations between hemodynamic, metabolic, and neuronal responses to acute whole-brain ischemia // NMR in Biomedicine. - 2015. - Vol. 28, № 11. - P. 1357–1365.

569. Tekieh E., Riahi E., Kazemi M. et al. Role of basal stress hormones and amygdala dimensions in stress coping strategies of male rhesus monkeys in response to a hazard-reward conflict. // Iranian journal of basic medical sciences. - 2017. - Vol. 20, № 8. - P. 951–957.

570. Tene O., Hallevi H., Korczyn A.D. et al. The Price of Stress: High Bedtime Salivary Cortisol Levels Are Associated with Brain Atrophy and

Cognitive Decline in Stroke Survivors. Results from the TABASCO Prospective Cohort Study // *Journal of Alzheimer's Disease*. - 2018. - Vol. 65, № 4. - P. 1365–1375.

571. Terranova J.I., Ogawa S.K., Kitamura T. Adult hippocampal neurogenesis for systems consolidation of memory // *Behavioural Brain Research*. - 2019. - Vol.372. - P. 112035.

572. Thomas C.L., Cassady J.C., Heller M.L. The influence of emotional intelligence, cognitive test anxiety, and coping strategies on undergraduate academic performance // *Learning and Individual Differences*. - 2017. - Vol.55. - P. 40–48.

573. Thompson N.J., Fiorillo D., Rothbaum B.O. et al. Coping strategies as mediators in relation to resilience and posttraumatic stress disorder // *Journal of Affective Disorders*. - 2018. - Vol.225. - P. 153–159.

574. Tourneur L., Chiocchia G. FADD: a regulator of life and death // *Trends in Immunology*. - 2010. - Vol. 31, № 7. - P. 260–269.

575. Tripathy C., Tripathy S., Gupta B., Kar S. Stress, coping, and immunologic relevance: An empirical literature review // *Journal of Medical Sciences*. - 2019. - Vol. 39, № 3. - P. 107–113.

576. Trivedi P.M., Fynch S., Kennedy L.M. et al. Soluble FAS ligand is not required for pancreatic islet inflammation or beta-cell destruction in non-obese diabetic mice // *Cell Death Discovery*. - 2019. - Vol. 5, № 1. - P. 136(1)-136(5).

577. Tsaras K., Daglas A., Mitsi D. et al. A cross-sectional study for the impact of coping strategies on mental health disorders among psychiatric nurses // *Health Psychology Research*. - 2018. - Vol. 6, № 1.

578. Tse T., Binte Yusoff S.Z., Churilov L. et al. Increased work and social engagement is associated with increased stroke specific quality of life in stroke survivors at 3 months and 12 months post-stroke: a longitudinal study of an Australian stroke cohort // *Topics in Stroke Rehabilitation*. - 2017. - Vol. 24, № 6. - P. 405–414.

579. Tsygan N.V., Trashkov A.P., Litvinenko I.V. et al. Autoimmunity in acute ischemic stroke and the role of blood-brain barrier: the dark side or the light one? // *Frontiers of Medicine*. - 2019. - Vol. 13, № 4. - P. 420–426.

580. Tu M., Zhu P., Hu S. et al. Notch1 Signaling Activation Contributes to Adult Hippocampal Neurogenesis Following Traumatic Brain Injury // *Medical Science Monitor*. - 2017. - Vol.23. - P. 5480–5487.

581. Tuo Q., Zhang S., Lei P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications // *Medicinal Research Reviews*. - 2022. - Vol. 42, № 1. - P. 259–305.

582. Tzeng T.-T., Tsay H.-J., Chang L. et al. Caspase 3 involves in neuroplasticity, microglial activation and neurogenesis in the mice hippocampus after intracerebral injection of kainic acid // *Journal of Biomedical Science*. - 2013. - Vol. 20, № 1. - P. 90(1)-90(16).

583. Tziomalos K., Dimitriou P., Bouziana S.D. et al. Stress hyperglycemia and acute ischemic stroke in-hospital outcome // *Metabolism*. - 2017. - Vol.67. - P. 99–105.

584. Ullah I., Chung K., Oh J. et al. Intranasal delivery of a Fas-blocking peptide attenuates Fas-mediated apoptosis in brain ischemia // *Scientific Reports*. - 2018. - Vol. 8, № 1. - P. 15041.

585. Um J.-Y., An N.-H., Kim H.-M. TNF- α and TNF- β Gene Polymorphisms in Cerebral Infarction // *Journal of Molecular Neuroscience*. - 2003. - Vol. 21, № 2. - P. 167–172.

586. Uswatte G., Taub E., Bowman M.H. et al. Rehabilitation of stroke patients with plegic hands: Randomized controlled trial of expanded Constraint-Induced Movement therapy // *Restorative Neurology and Neuroscience*. - 2018. - Vol. 36, № 2. - P. 225–244.

587. Uzdensky A.B. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins // *Apoptosis*. - 2019. - Vol. 24, № 9–10. - P. 687–702.

588. Vanhaudenhuyse A., Gillet A., Malaise N. et al. Psychological interventions influence patients' attitudes and beliefs about their chronic pain // *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. - 2018. - Vol. 8, № 2. - P. 296–302.
589. Vaseva A.V., Marchenko N.D., Ji K. et al. p53 Opens the Mitochondrial Permeability Transition Pore to Trigger Necrosis // *Cell*. - 2012. - Vol. 149, № 7. - P. 1536–1548.
590. Veny M., Virgen-Slane R., Ware C.F. TNF Superfamily in Inflammation под ред. K. Ley, World Scientific, 2018. - P. 1–50.
591. Vidale S., Consoli A., Arnaboldi M., Consoli D. Postischemic Inflammation in Acute Stroke // *Journal of Clinical Neurology*. - 2017. - Vol. 13, № 1. - P. 1–9.
592. Villada C., Espin L., Hidalgo V. et al. The influence of coping strategies and behavior on the physiological response to social stress in women: The role of age and menstrual cycle phase // *Physiology & Behavior*. - 2017. - Vol.170. - P. 37–46.
593. Visser M., Aben L., Heijenbrok-Kal M. et al. The relative effect of coping strategy and depression on health-related quality of life in patients in the chronic phase after stroke // *Journal of Rehabilitation Medicine*. - 2014. - Vol. 46, № 6. - P. 514–519.
594. Visvader J.E., Clevers H. Tissue-specific designs of stem cell hierarchies // *Nature Cell Biology*. - 2016. - Vol. 18, № 4. - P. 349–355.
595. Vitolo M. Overview on the biological role of free radicals // *World Journal of Pharmaceutical Research*. - 2019. - Vol. 8, № 13. - P. 23–46.
596. Voirin A.-C., Perek N., Roche F. Inflammatory stress induced by a combination of cytokines (IL-6, IL-17, TNF- α) leads to a loss of integrity on bEnd.3 endothelial cells in vitro BBB model // *Brain Research*. - 2020. - Vol.1730. - P. 146647.

597. Waetzig V., Loose K., Haeusgen W., Herdegen T. c-Jun N-terminal kinases mediate Fas-induced neurite regeneration in PC12 cells // *Biochemical Pharmacology*. - 2008. - Vol. 76, № 11. - P. 1476–1484.
598. Wajant H. The Fas Signaling Pathway: More Than a Paradigm // *Science*. - 2002. - Vol. 296, № 5573. - P. 1635–1636.
599. Wajant H., Pfizenmaier K., Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling // *Cell Death & Differentiation*. - 2003. - Vol. 10, № 1. - P. 45–65.
600. Wajant H., Pfizenmaier K., Scheurich P. Non-apoptotic Fas signaling // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. - 2003. - Vol. 14, № 1. - P. 53–66.
601. Walker J.J., Spiga F., Gupta R. et al. Rapid intra-adrenal feedback regulation of glucocorticoid synthesis // *Journal of The Royal Society Interface*. - 2015. - Vol. 12, № 102. - P. 20140875(1)-20140875(10).
602. Wan C., Jiang J., Mao H. et al. Involvement of Upregulated P53-Induced Death Domain Protein (PIDD) in Neuronal Apoptosis after Rat Traumatic Brain Injury // *Journal of Molecular Neuroscience*. - 2013. - Vol. 51, № 3. - P. 695–702.
603. Wang G.-H., Lan R., Zhen X.-D. et al. An-Gong-Niu-Huang Wan protects against cerebral ischemia induced apoptosis in rats: Up-regulation of Bcl-2 and down-regulation of Bax and caspase-3 // *Journal of Ethnopharmacology*. - 2014. - Vol. 154, № 1. - P. 156–162.
604. Wang J., Liu Z., Fang J. et al. Clinicopathologic features of embryonal tumor with multilayered rosettes and gene analysis on chromosome 19q13.42 // *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology*. - 2015. - Vol. 44, № 12. - P. 889–94.
605. Wang J., Cao B., Zhao H. et al. Long noncoding RNA H19 prevents neurogenesis in ischemic stroke through p53/Notch1 pathway // *Brain Research Bulletin*. - 2019. - Vol.150. - P. 111–117.
606. Wang J., Zhang W., Ma B. et al. A novel biscoumarin derivative dephosphorylates ERK and alleviates apoptosis induced by mitochondrial

oxidative damage in ischemic stroke mice // *Life Sciences*. - 2021. - Vol.264. - P. 118499.

607. Wang J., Wang J.-F., Hu X.-M. Caspase-3 in serum predicts outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage // *Clinica Chimica Acta*. - 2016. - Vol.460. - P. 196–202.

608. Wang L., Chopp M., Zhang R.L. et al. The Notch pathway mediates expansion of a progenitor pool and neuronal differentiation in adult neural progenitor cells after stroke // *Neuroscience*. - 2009. - Vol. 158, № 4. - P. 1356–1363.

609. Wang L., Yu C., Chen H. et al. Dynamic functional reorganization of the motor execution network after stroke // *Brain*. - 2010. - Vol. 133, № 4. - P. 1224–1238.

610. Wang S.A. T- and NK-Cell Lymphocytosis Cham: Springer International Publishing, 2018. - P. 281–328.

611. Wang T., Mantini D., Gillebert C.R. The potential of real-time fMRI neurofeedback for stroke rehabilitation: A systematic review // *Cortex*. - 2018. - Vol.107. - P. 148–165.

612. Wang W., Liu C., Sun K. Induction of Amnion Epithelial Apoptosis by Cortisol via tPA/Plasmin System // *Endocrinology*. - 2016. - Vol. 157, № 11. - P. 4487–4498.

613. Waterhouse N.J., Sutton V.R., Sedelies K.A. et al. Cytotoxic T lymphocyte-induced killing in the absence of granzymes A and B is unique and distinct from both apoptosis and perforin-dependent lysis // *Journal of Cell Biology*. - 2006. - Vol. 173, № 1. - P. 133–144.

614. Weber L.A., Ethofer T., Ehlis A.-C. Predictors of neurofeedback training outcome: A systematic review // *NeuroImage: Clinical*. - 2020. - Vol.27. - P. 102301.

615. Wei C., Gao J., Chen L. et al. Factors associated with post-stroke depression and emotional incontinence: lesion location and coping styles // *International Journal of Neuroscience*. - 2015. - P. 1–7.

616. Wen B., Ma L., Weng C. The impact of constraint induced movement therapy on brain activation in chronic stroke patients with upper extremity paralysis: An fMRI study // *International Journal of Imaging Systems and Technology*. - 2014. - Vol. 24, № 3. - P. 270–275.

617. Wichmann S., Kirschbaum C., Böhme C., Petrowski K. Cortisol stress response in post-traumatic stress disorder, panic disorder, and major depressive disorder patients // *Psychoneuroendocrinology*. - 2017. - Vol.83. - P. 135–141.

618. Wilkins H.M., Swerdlow R.H. TNF α in cerebral ischemia: another stroke against you? // *Journal of Neurochemistry*. - 2015. - Vol. 132, № 4. - P. 369–372.

619. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage // *Neurobiology of Stress*. - 2017. - Vol.6. - P. 78–93.

620. Wingenfeld K., Wolf S., Krieg J.-C., Lautenbacher S. Working memory performance and cognitive flexibility after dexamethasone or hydrocortisone administration in healthy volunteers // *Psychopharmacology*. - 2011. - Vol. 217, № 3. - P. 323–329.

621. Wosik K., Biernacki K., Khouzam M.-P., Prat A. Death receptor expression and function at the human blood brain barrier // *Journal of the Neurological Sciences*. - 2007. - Vol. 259, № 1–2. - P. 53–60.

622. Wu H., Hymowitz S.G. Structure and Function of Tumor Necrosis Factor (TNF) at the Cell Surface Elsevier, 2010. - P. 265–275.

623. Xiao P., Liu X.W., Zhao N.N. et al. Correlations of neuronal apoptosis with expressions of c-Fos and c-Jun in rats with post-ischemic reconditioning damage // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. - 2018. - Vol.22. - P. 2832–2838.

624. Xue X., Li F., Cai M. et al. Interactions between Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy: Implications for Apoptosis and Neuroplasticity-Related Proteins in Palmitic Acid-Treated Prefrontal Cells // *Neural Plasticity*. - 2021. - Vol.2021.

625. Xue Y., Liang H., Yang R. et al. The role of pro- and mature neurotrophins in the depression // Behavioural Brain Research. - 2021. - Vol.404.
626. Yagami T., Yamamoto Y., Koma H. Pathophysiological Roles of Intracellular Proteases in Neuronal Development and Neurological Diseases // Molecular Neurobiology. - 2019. - Vol. 56, № 5. - P. 3090–3112.
627. Yamada A., Arakaki R., Saito M. et al. Dual Role of Fas/FasL-Mediated Signal in Peripheral Immune Tolerance // Frontiers in Immunology. - 2017. - Vol.8. - P. 403(1)-403(10).
628. Yamashita A., Hayasaka S., Kawato M., Imamizu H. Connectivity Neurofeedback Training Can Differentially Change Functional Connectivity and Cognitive Performance // Cerebral Cortex. - 2017. - Vol. 27, № 10. - P. 4960–4970.
629. Yang C., Hawkins K.E., Doré S., Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke // American Journal of Physiology-Cell Physiology. - 2019. - Vol. 316, № 2. - P. C135–C153.
630. Yang Q., Huang Q., Hu Z., Tang X. Potential Neuroprotective Treatment of Stroke: Targeting Excitotoxicity, Oxidative Stress, and Inflammation // Frontiers in Neuroscience. - 2019. - Vol.13. - P. 1036(1)-1036(7).
631. Yang S.-H., Sharrocks A.D., Whitmarsh A.J. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation // Gene. - 2013. - Vol. 513, № 1. - P. 1–13.
632. Yardimoğlu M., İlbay G., Dalçik C. et al. Immunocytochemistry of Neuron Specific Enolase (NSE) in the Rat Brain After Single and Repeated Epileptic Seizures // International Journal of Neuroscience. - 2008. - Vol. 118, № 7. - P. 981–993.
633. Yokobori S., Nakae R., Yokota H. et al. Subdural hematoma decompression model: A model of traumatic brain injury with ischemic-reperfusional pathophysiology: A review of the literature // Behavioural Brain Research. - 2018. - Vol.340. - P. 23–28.

634. Yoon J.S., Jo D., Lee H.-S. et al. Spatiotemporal Protein Atlas of Cell Death-Related Molecules in the Rat MCAO Stroke Model // *Experimental Neurobiology*. - 2018. - Vol. 27, № 4. - P. 287–298.

635. Yu S., Holsboer F., Almeida O.F. X. Neuronal actions of glucocorticoids: Focus on depression // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. - 2008. - Vol. 108, № 3–5. - P. 300–309.

636. Yuan J. Neuroprotective strategies targeting apoptotic and necrotic cell death for stroke // *Apoptosis*. - 2009. - Vol. 14, № 4. - P. 469–477.

637. Yuan Y., Shan X., Men W. et al. The effect of crocin on memory, hippocampal acetylcholine level, and apoptosis in a rat model of cerebral ischemia // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. - 2020. - Vol.130. - P. 110543(1)-110543(6).

638. Yurttas C., Schmitz C., Turgut M. et al. The olfactory bulbectomized rat model is not an appropriate model for studying depression based on morphological/stereological studies of the hippocampus // *Brain Research Bulletin*. - 2017. - Vol.134. - P. 128–135.

639. Zamorano C., Fernández-Albert J., Storm D.R. et al. Memory Retrieval Re-Activates Erk1/2 Signaling in the Same Set of CA1 Neurons Recruited During Conditioning // *Neuroscience*. - 2018. - Vol.370. - P. 101–111.

640. Zaremba J., Skrobanski P., Losy J. Tumour necrosis factor-alpha is increased in the cerebrospinal fluid and serum of ischaemic stroke patients and correlates with the volume of evolving brain infarct // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. - 2001. - Vol. 55, № 5. - P. 258–263.

641. Zerriaa O., Moula O., ben Saadi S. et al. Benefits of antidepressant treatment after a stroke // *European Psychiatry*. - 2017. - Vol.41. - № S1. - P. S315–S315.

642. Zhai D., Chin K., Wang M., Liu F. Disruption of the nuclear p53-GAPDH complex protects against ischemia-induced neuronal damage // *Molecular Brain*. - 2014. - Vol. 7, № 1. - P. 20(1)-20(12).

643. Zhang X., Yang C., Gao J. et al. Voluntary running-enhanced synaptic plasticity, learning and memory are mediated by Notch1 signal pathway in C57BL mice // *Brain Structure and Function*. - 2018. - Vol. 223, № 2. - P. 749–767.

644. Zhang X., Yang S., Chen J., Su Z. Unraveling the Regulation of Hepatic Gluconeogenesis // *Frontiers in Endocrinology*. - 2019. - Vol.9. - P. 802(1)-802(17).

645. Zhang X., Zou W., Yang Y. Effects of IL-6 and cortisol fluctuations in post-stroke depression // *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. - 2016. - Vol. 36, № 5. - P. 732–735.

646. Zhang Y., Cao Y., Liu C. Autophagy and Ischemic Stroke 2020. - P. 111–134.

647. Zhao H., Wan L., Chen Y. et al. FasL incapacitation alleviates CD4⁺ T cells-induced brain injury through remodeling of microglia polarization in mouse ischemic stroke // *Journal of Neuroimmunology*. - 2018. - Vol.318. - P. 36–44.

648. Zhao J.-H., Wang B., Wang X.-H., Xu C.-W. Effect of lncRNA GAS5 on the apoptosis of neurons via the notch1 signaling pathway in rats with cerebral infarction. // *European review for medical and pharmacological sciences*. - 2019. - Vol. 23, № 22. - P. 10083–10091.

649. Zhao Y., Shang P., Wang M. et al. Neuroprotective Effects of Fluoxetine Against Chronic Stress-Induced Neural Inflammation and Apoptosis: Involvement of the p38 Activity // *Frontiers in Physiology*. - 2020. - Vol.11. - P. 351(1)-351(11).

650. Zheng J., Dai Q., Han K. et al. JNK-IN-8, a c-Jun N-terminal kinase inhibitor, improves functional recovery through suppressing neuroinflammation in ischemic stroke // *Journal of Cellular Physiology*. - 2020. - Vol. 235, № 3. - P. 2792–2799.

651. Zheng L., Siegel R.M., Muppidi J.R. et al. Receptor-Mediated Apoptosis and Lymphocyte Homeostasis под ред. R. K. Burt, A. M. Marmont, New York: CRC Press, 2019. - P. 119–131.

652. Zhong Y., Zhu Y., He T. et al. Brain-derived neurotrophic factor inhibits hyperglycemia-induced apoptosis and downregulation of synaptic plasticity-related proteins in hippocampal neurons via the PI3K/Akt pathway // *International Journal of Molecular Medicine*. - 2018. - P. 294–304.

653. Zhou Z., Ji X., Zhang L. et al. Potential targets for protecting against hippocampal cell apoptosis after transient cerebral ischemia-reperfusion injury in aged rats // *Neural Regeneration Research*. - 2014. - Vol. 9, № 11. - P. 1122–1128.

654. Zhu B., Pan Y., Jing J. et al. Stress Hyperglycemia and Outcome of Non-diabetic Patients After Acute Ischemic Stroke // *Frontiers in Neurology*. - 2019. - Vol.10. - P. 1003(1)-1003(8).

655. Zigmond A.S., Snaith R.P. The Hospital Anxiety and Depression Scale // *Acta Psychiatrica Scandinavica*. - 1983. - Vol. 67, № 6. - P. 361–370.

656. Zink D., Sadoni N., Stelzer E. Visualizing chromatin and chromosomes in living cells // *Methods*. - 2003. - Vol. 29, № 1. - P. 42–50.

657. Zorec R., Vardjan N., Verkhatsky A. Locus Coeruleus Noradrenergic Neurons and Astroglia in Health and Disease Elsevier, 2017. - P. 1–24.

658. Zotova N.V., Chereshev V.A., Gusev E. Yu. Systemic Inflammation: Methodological Approaches to Identification of the Common Pathological Process // *PLOS ONE*. - 2016. - Vol. 11, № 5. - P. e0155138.

659. Zuliani C., Kleber S., Klussmann S. et al. Control of neuronal branching by the death receptor CD95 (Fas/Apo-1) // *Cell Death & Differentiation*. - 2006. - Vol. 13, № 1. - P. 31–40.