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

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные консультанты:

Литвицкий Пётр Францевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем Научно-технологического парка биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Савин Алексей Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней лечебного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Голубев Аркадий Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией патологии клетки при критических состояниях Научно-исследовательского института общей реаниматологии имени В.А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии

Пинелис Всеволод Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Котов Сергей Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей, главный научный сотрудник неврологического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Защита состоится « 20 » октября 2022 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.180.01, созданного на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8. С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИОПП», а также на сайте http://www.niiopp.ru/.

Автореферат разослан « 19 » сентября 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук Н.Б. Панкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Ишемический инсульт (ИИ) – медико-социально и экономически значимое заболевание (Котов С.В., Стаховская Л.В., 2018; Li L. et al., 2020; Клочихина О.А. и др. 2021). Системой здравоохранения достигнуты большие успехи в его лечении, усовершенствованы методы реабилитации (Пирадов М.А., Максимова М.Ю., Танашян М.М., 2019; Камчатнов П.Р., 2020). Но все же многие вопросы еще не решены (Олейникова Т.А. и др., 2021.). Высокая смертность, долгосрочная инвалидность пациентов после ИИ и связанные с ней значимые экономические потери (Суслина З.А., Пирадов М.А., Домашенко М.А., 2014; Федин А.И., Бадалян К.Р., 2019) 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 регулируемой гибели клетки (Hengartner M.O., 2000; Lossi L., 2022). Он считается одним из основных механизмов повреждения нейронов при развитии ИИ (Tuo Q. et al., 2021). В экспериментальных и клинических исследованиях «антиапоптозный» эффект терапевтических воздействий традиционно трактуется как положительный (Hasegawa Y. et al., 2020; Chen B. et al., 2020; Sun Y. et al., 2021; Yuan Y. et al., 2020). Однако, это не вполне соответствует общебиологической роли апоптоза, как основного регулятора клеточного состава тканей организма (D'Arcy M.S., 2019; Singh R. et al., 2019; Шишкин В.И. и др., 2020; Шляпина В.Л. и др., 2021). 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 (Lossi L., 2022). Так, глутаматная эксайтотоксичность - один из ведущих механизмов патогенеза ИИ - может приводить к индукции апоптоза в нейронах головного мозга (Efremov Y.M. et al., 2020). Значимым внешним стимулом может быть взаимодействие лигандов и рецепторов смерти суперсемейства фактора некроза опухоли. Их мембранные формы выявлены на поверхности нейронов (Akamatsu Y., 2020), а содержание растворимых - изменяется в периферической крови после повреждений нервной ткани (Bhattacharya A. et al., 2021; Lorente L. et al., 2021; Ramiro L. et al., 2021). 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) (Kim S. et al., 2020; Shen Y. et al., 2019; Seyrek K., Lavrik I. N., 2019; Guégan J. P. et al., 2020).

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 (Costa-Mattioli M., Walter P., 2020; Spikman J.M. et al. 2021). ИИ представляет собой вариант стрессорного воздействия (Kwok M.K. et al., 2020; Iob E., Steptoe A., 2019; Сериков К.В., 2017; Клюева Л.А. и др., 2020). Данные о закономерностях динамики концентраций гормонов стресс-реализующей системы в периферической крови пациентов ИИ противоречивы (Montellano F.A. et al., 2021). Повышение уровня связанных с реализацией ответа на стрессорное воздействие БАВ - кортизола и интерлейкина-6 (ИЛ-6) –характерно также и для пациентов, страдающих депрессией (Menard C. et al., 2017; Beurel E. et al., 2020; Milaneschi Y. et al., 2021; Psarraki E.E. et al., 2021; Nandam L.S. et al., 2020). Это состояние развивается почти у каждого 3-го больного, перенесшего ИИ, и негативно влияет на процессы восстановления (Парфенов В.А., 2020; Захаров В.В., Калимеева Е.Ю., 2017). В экспериментальных работах выявлено увеличение числа реализующих апоптоз нейронов в головном мозге и при депрессии, и при ИИ (Chang L. et al., 2020; Uzdensky A.B., 2019; Xiao P. et al., 2020; Xue Y. et al., 2021).

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, TNFα) и рецепторов (sFas, sTNF-R1, Fas) в периферической крови пациентов в остром периоде ИИ.
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 гормонов стресс-реализующей системы (адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола, адреналина, норадреналина), ИЛ-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

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 TNFα (TNFα, sTNF-R1). Показано, что у пациентов с острым ИИ наблюдается закономерное увеличение в периферической крови преимущественно концентраций растворимых лигандов (sFasL, TNFα) по сравнению с таковыми в контрольной группе. Выявлено существенное влияние величины и динамики соотношения концентраций факторов гуморальной регуляции апоптоза (sFasL и sFas; TNFα и sTNF-R1) на особенности клинического течения и прогноз исхода острого периода ИИ. Определено, что роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNFα 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 ½, 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 трансмембанную форму. Также выявлены ранее неизвестные связи этих показателей с экспрессией в нейронах каспаз и маркеров нейрональной активации FAIM2, c-fos, ERK ½, MAP2.

Теоретическая значимость

Результаты настоящей работы расширяют представления о значении в остром периоде ИИ апоптоза нейронов. Они являются основой выявленных 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 может приводить 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 микрооокружения. 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 (Шабалин В.Н., Шатохина С.Н., 2020) 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 совокупности факторов микроокружения нейронов в головном мозге посредством целенаправленного моделирования и последовательной модификации совокупности факторов реабилитационной макросреды окружения пациента.

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, ИЛ-6 в периферической крови пациентов после ИИ во врачебной практике для вывода о прогнозе состояния пациента с учетом того факта, что концентрации этих веществ при ИИ, достоверно возрастая 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 выше 12 баллов 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 (в их числе Осколок Л.Н., Порядин Г.В., 2016; Львова О.А., Гусев В.В., Чегодаев Д.А., 2009; Radak D. et al., 2017; Favaloro B. et al., 2012), 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 TNFα по сравнению с показателями в контрольной группе.
2. Соотношения концентраций растворимых рецепторов и лигандов регулирующих апоптоз (sFasL/sFas и TNFα/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 применением 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 конгресе, посвященном Всемирному дню инсульта., Москва, 25-27 октября, 2017 года, научно-практической конференции, посвященной 60-летию организации кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМ. – Гродно, 22 июня 2018 года, 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 года, V Научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной неврологии», Москва, 10 октября 2019 года, XX Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях», Москва, 13-14 ноября 2020 года.

По итогам рассмотрения на совместном заседании кафедры патофизиологии ИБИМС 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.

Связь с планом научного направления

Тема диссертации утверждена решением ученого совета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (протокол № 6 от 27 июня 2011 г.), корректировка названия темы утверждена решением Межфакультетского ученого совета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол №7 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 в диссертационном исследовании результаты внедрены в учебный процесс на кафедре нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ имени А.И. Евдокимова Минздрава России при обучении студентов и курсантов на факультете последипломного образования, а также на кафедре патофизиологии, на кафедре патологии человека Института клинической медицины и на кафедре патологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). 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 ФМБА России, неврологического отделения Больницы Центросоюза Российской Федерации, неврологического отделения особого структурного подразделения Российского геронтологического научно-клинического центра ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Объектами исследования были пациенты, впервые перенесшие ИИ в бассейнах левой или правой средней мозговой артерии (ЛСМА и ПСМА). В ходе научной работы автором обследовано 948 пациентов, поступивших по каналу скорой медицинской помощи в неврологический стационар и отделение реанимации ГКБ № 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 ПСМА, 67 – ЛСМА (Таблица 1). Пациенты с лево- и правосторонней локализацией очага ИИ не имели достоверных различий по степени отклонения от контроля клинических и лабораторных показателей. Группу контроля составили 28 человек (15 мужчин и 13 женщин) (Таблица 2).

Таблица 1 - Характеристика пациентов группы исследования

		Всего	Мужчины	Женщины
Количество		155	77	78
Возраст (среднее ± ст. откл.)		64 ± 10	57 ± 5,9	71 ± 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 исследование включали пациентов (критерии включения) с впервые развившимся ИИ в бассейне ЛСМА или ПСМА, установленным клинически, подтвержденным при помощи методов нейровизуализации (магнитно-резонансной томографии – МРТ (Т1, Т2, DVI режимы), компьютерной томографии – КТ) или патологоанатомически и давших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. В исследование не включали пациентов (критерии невключения) с геморрагическим инсультом, повторным ИИ, 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: проведение реканализационной терапии, отказ пациента от участия в исследовании после подписания информированного согласия на любом этапе, геморрагическая

трансформация ИИ, развитие инфекционных и аллергических 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.

Таблица 2 - Характеристика пациентов группы контроля

		Всего	Мужчины	Женщины
Количество		28	13	15
Возраст (среднее ± ст. откл.)		63 ± 8,4	58 ± 6,8	68 ± 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				

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 соответствовало требованиям Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000) и было одобрено Межвузовским комитетом по этике (выписка из протокола заседания от 26.09.2019 № 08-19).

Для объективизации оценки состояния пациентов и возможности последующей статистической обработки данных использовали стандартные международные шкалы. Неврологический статус пациентов оценивали в баллах по Шкале инсульта национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS); функциональные нарушения по шкалам Бартел и Рэнкина; уровень психоэмоционального стресса по опроснику Reeder (Daily Life Stress scale); депрессию и тревогу по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression

Scale, HADS). Патогенетический подтип ИИ диагностировали в соответствии с критериями TOAST (Adams Jr H. P. et al., 1993).

При выполнении лабораторного исследования периферической крови 155 больных ИИ в плазме их крови определяли содержание sFas, sFasL, TNFα, sTNF-R1, ИЛ-6, кортизола (К), адреналина (А), норадреналина (НА), адренокортикотропного гормона (АКТГ) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Использовали стандартные тест системы и многоканальный спектрофотометр Multiscan EX (Labsystems, Финляндия) в строгом соответствии с инструкциями. В образцах крови также выполняли фенотипирование субпопуляций CD3+ и CD3CD95+ лимфоцитов методом проточной цитофлюорометрии (цитофлюориметр Beckman Coulter Epix XL-MCL (Франция)) с использованием моноклональных антител фирмы Dako CD3/FITC, CD95(Fas)/RPE. Взятие проб крови проводилось в острейшем периоде (1-3 сутки), а также на 7-е и 21-е сутки после развития ИИ в рамках стандартного обследования пациента, натощак в утренние часы, при пункции срединной локтевой вены. В группе контроля (28 человек) пробы крови брались однократно с целью научного исследования.

Материалом для патоморфологического исследования были образцы ткани головного мозга 9 пациентов с ИИ в бассейне ЛСМА, вошедших в клиническое исследование и умерших до 7 суток пребывания в стационаре. Материал получали из банка данных патологоанатомического отделения ГБУЗ ГКБ №36 им. Ф.И. Иноземцева в виде парафиновых блоков. Образцы тканей головного мозга группы контроля (3 человека) получали из банка данных ГБУЗ "Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы" также в виде парафиновых блоков. Выполнение научной работы не влияло на факт проведения патологоанатомического исследования, не предполагало изменения его протокола и заключалось в дополнительном гистологическом и иммуногистохимическом исследовании образцов предоставленных из банка.

Исследовали головной мозг, 3-и его зоны: 1-ая зона прилежала непосредственно к очагу некротической ткани, 2-ая зона («зона пенумбры») была отдалена от предыдущей на 4 - 7 см, 3-я зона находилась в контралатеральном полушарии и была симметрична очагу ИИ (Рисунок 1). В группе контроля исследовали один образец ткани коры головного мозга бассейна кровоснабжения ЛСМА. Срезы изготавливали толщиной 5 мкм на ротационном микротоме Leica RM2125RT (Германия). Использовали методы окрашивания гематоксилином и эозином и по Нисслю.

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) и флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse TE-2000. Визуальную оценку и морфометрический анализ коры головного мозга проводили на полученных с использованием вышеуказанного оборудования цифровых фотографиях (объектив х40, апертура 0,9) размером изображения 1300х1030 пикселов, реальным размером захваченной области 220х174 мкм (38280 мкм^2). 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).

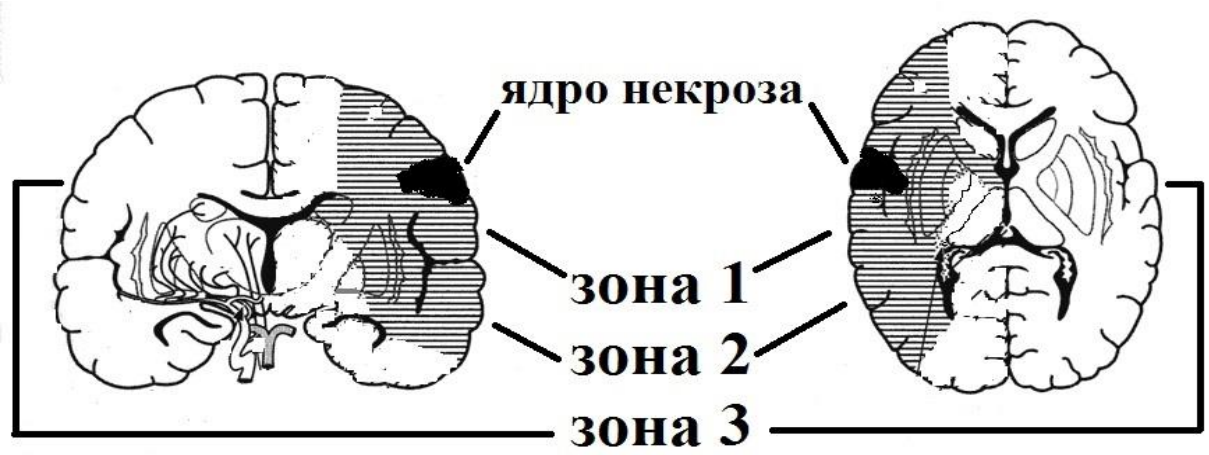

Рисунок 1 - Схематичное изображение исследованных зон коры головного мозга.

На срезах выявляли белки: нейронспецифическую енолазу (neuron specific enolase, NSE), глиофибриллярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein, GFAP), белок p53 (protein 53, p53), каспазу 3, каспазу 8, 6 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), лиганд 6 члена суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6 ligand, TNFRSF6L или FasL, cluster of differentiation 178, CD178), Fas-апоптоз ингибиторную молекулу 2 (Fas apoptotic inhibitory molecule 2, FAIM2), белок c-fos, регулируемую внеклеточными сигналами киназу 1/2 (extracellular signal–regulated kinase 1/2, ERK1/2), белок Notch1. Для их выявления использовали непрямой иммунопероксидазный иммуногистохимический метод. 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. Фоновое контрастирование срезов выполняли гематоксилином Майера. Для отрицательного контроля вторичных антител не добавляли первичные антитела. Контроль специфичности реакции проводили с помощью неиммунной сыворотки, а также антител к виментину («Dako», Дания).

Морфометрию ткани мозга проводили с использованием световой микроскопии срезов, окрашенных гематоксилином-эозином, по Нисслю и после проведения иммуногистохимической реакции для выявления NSE. Подсчитывали нейроны с сохранной морфологической структурой и нейроны с нарушенной морфологической структурой. Определяли следующие показатели: абсолютное количество нейронов на единицу площади среза 1 мкм^2 (общая численная плотность нейронов), общую плотность нейронов с нарушенной морфологической структурой на единицу площади среза 1 мкм^2, 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), процентное содержание нейронов с положительной иммуногистохимической реакцией для выявления вышеуказанных белков от всех нейронов в поле зрения.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, США). Для проверки гипотезы о законе распределения данных применяли критерий Пирсона, критерий $\chi 2$ и критерий Колмогорова-Смирнова. При неподтверждении нормальности распределения у выборки указывали медиану, в скобках приводили нижний квартиль и верхний квартиль. Для работы с такими выборками использовали непараметрические методы. При подтверждении нормальности распределения количественные данные представляли в виде среднего (M) ± 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 $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Закономерности изменения лиганд-рецепторных соотношений систем Fas и TNFα в периферической крови и их роль в патогенезе и проявлениях острого периода ИИ.

В остром периоде ИИ во все сроки исследования происходило достоверное увеличение концентрации растворимых регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNFα (за исключением sTNF-R1) по сравнению с контрольными показателями ($p<0,01$) (Таблица 3).

Таблица 3 - Концентрации растворимых регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNFα в периферической крови пациентов в остром периоде ИИ и в группе контроля.

Параметр	**TNFα (пг/мл)**	**sTNF-R1 (пг/мл)**	**TNFα/sTNF-R1 (д.ед.)**
Контроль	14,33 ± 1,48	291,07 ± 54,30	50,23 ± 6,93
1-е сутки	35,65 ± 10,38**##	297,59 ± 107,05##	123,49 ± 27,06**##
7-е сутки	28,48 ± 8,37**	329,04 ± 97,69*	88,20 ± 15,43**##
21-е сутки	30,64 ± 10,45**	334,85 ± 185,55	103,52 ± 30,56**
Параметр	**sFas (пг/мл)**	**sFasL (пг/мл)**	**sFasL/sFas (д.ед.)**
Контроль	92,27 ± 26,62	208,29 ± 67,05	2,26 ± 0,33
1-е сутки	113,84 ± 56,37##	342,37 ± 190,88**##	2,98 ± 0,97**
7-е сутки	167,25 ± 71,85**##	478,94 ± 248,51**#	2,83 ± 0,91*
21-е сутки	198,26 ± 74,22**	570,16 ± 245,26**	2,91 ± 0,95**

С течением времени для растворимых эффекторов системы Fas было характерно прогредиентное нарастание вплоть до завершения острого периода ИИ (21-е сутки исследования), а для эффекторов системы TNFα более сложная разнонаправленная динамика. При этом все указанные параметры (за исключением sTNF-R1) в острейшем периоде ИИ (1-е сутки исследования) отражали тяжесть неврологического дефекта (Таблица 4)

Сходный результат был получен при ретроспективной оценке, когда выполняли корреляционный анализ между показателями концентраций регулирующих апоптоз систем Fas и TNFα в острейшем периоде и выраженностью неврологического (в баллах по шкале NIHSS) и функционального дефекта (по шкалам Бартел и Рэнкина) в исходе острого периода ИИ. Наиболее высокие коэффициенты корреляции были характерны для показателей соотношения концентраций лигандов и рецепторов. При этом максимальной прогностической значимостью обладало отношение концентраций sFasL/sFas ($r= 0,675$, $p<0,01$). При графическом отображении зависимости величины этого показателя и выраженности неврологического дефекта в исходе ИИ отмечалось разделение пациентов на две группы (Рисунок 2). Так, соотношение sFasL к sFas

принимало значения менее 2,22 ± 0,60, которые достоверно от контроля не отличались, при относительно низком уровне неврологического дефекта на 21-е сутки (NIHSS≤5). В отличие от этого, для пациентов с уровнем неврологического дефекта в исходе острого периода ИИ более 5 баллов по NIHSS отношение sFasL/sFas принимало значения 3,71 ± 0,60, которые достоверно отличались и от значений контрольной группы (p<0,01) и от значений в группе с NIHSS≤5 (p<0,01).

Таблица 4 - Результаты корреляционного анализа концентраций регулирующих апоптоз факторов систем Fas и TNFα в периферической крови и тяжести неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS у пациентов в остром периоде ИИ.

Показатели		Балл по шкале NIHSS		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
1-е сутки	sFas (пг/мл)	0,388**	0,280**	-0,054
	sFasL (пг/мл)	0,632**	0,504**	0,349**
	sFasL/sFas (д. ед.)	0,662**	0,565**	0,675**
	sTNF-R1 (пг/мл)	0,029	0,327**	-0,032
	TNFα (пг/мл)	0,576**	0,674**	0,392**
	TNFα/sTNF-R1 (д.ед.)	0,718**	0,409**	0,524**
7-е сутки	sFas (пг/мл)	0,434**	0,554**	0,265*
	sFasL (пг/мл)	0,522**	0,693**	0,615**
	sFasL/sFas (д. ед.)	0,411**	0,550**	0,674**
	sTNF-R1 (пг/мл)	0,420**	0,282**	0,286*
	TNFα (пг/мл)	0,552**	0,491**	0,371**
	TNFα/sTNF-R1 (д.ед.)	0,134	0,278**	0,280*
21-е сутки	sFas (пг/мл)	0,330**	0,241	0,169
	sFasL (пг/мл)	0,445**	0,439**	0,496**
	sFasL/sFas (д. ед.)	0,459**	0,510**	0,701**
	sTNF-R1 (пг/мл)	0,433**	0,391**	0,246
	TNFα (пг/мл)	0,293*	0,286*	0,058
	TNFα/sTNF-R1 (д.ед.)	-0,095	-0,067	-0,274*

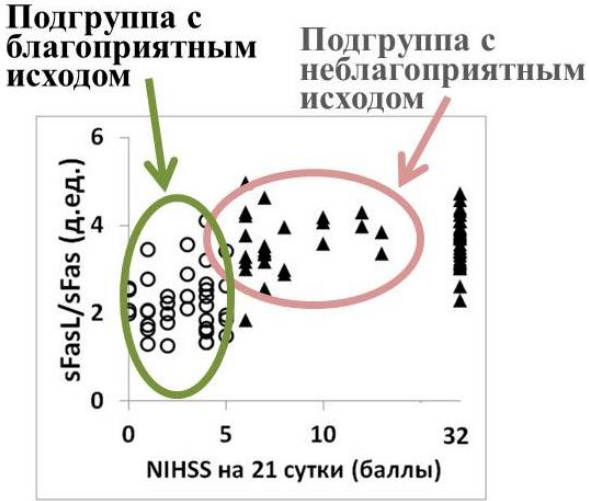

Рисунок 2 - Зависимость показателей соотношения концентраций sFasL и sFas в периферической крови пациентов в 1-е сутки от уровня неврологического дефекта в баллах NIHSS на 21 сутки.

Учитывая, что функциональные ограничения пациента при неврологическом дефекте менее 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 ИИ», второй (NIHSS на 21 сутки >5) - «подгруппа с неблагоприятным исходом ИИ». Выделение вышеуказанных подгрупп также было обосновано при сравнении p-уровней отличий между подгруппами с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ с разным граничным уровнем неврологического дефекта (Рисунок 3).

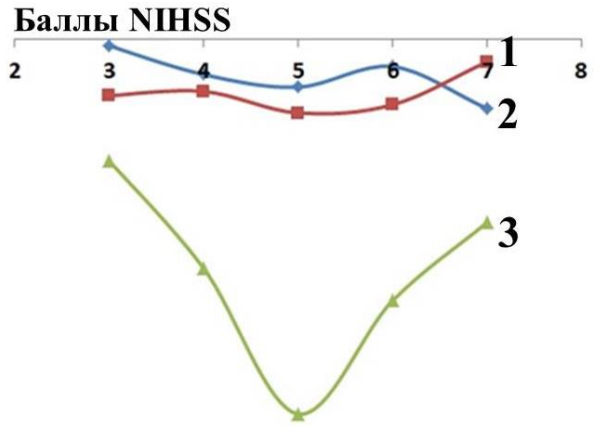

Рисунок 3 – Динамика p-показателя отличий математических ожиданий концентраций sFasL (кривая 1) и sFas (кривая 2), а также их соотношения (кривая 3) между подгруппами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом острого периода ИИ при использовании разных значений уровня неврологического дефицита, выраженного в баллах по шкале NIHSS, как граничного при распределении пациентов на вышеуказанные подгруппы.

Из вышепредставленного следует, что отношение концентраций sFasL/sFas в настоящей работе является ключевым прогностическим параметром функционального исхода острого периода ИИ. Сочетанное повышение концентрации растворимых регулирующих апоптоз лигандов в периферической крови в острейшем периоде ИИ вероятно связано с воспалительной реакцией в ответ на критическое падение уровня кислорода и субстратного обеспечения нервной ткани головного мозга. Оно тем сильнее, чем больше объем ишемического повреждения нервной ткани, который определяет тяжесть клинических неврологических проявлений ИИ. Так, в острейшем периоде ИИ получены достоверные корреляции между тяжестью неврологического дефекта в баллах NIHSS и величиной лейкоцитоза ($r= 0,365$, $p<0,01$), лимфоцитоза ($r= 0,295$, $p<0,01$), концентрацией ИЛ-6 ($r= 0,452$, $p<0,01$). При уровне лейкоцитов выше $11*10^9$/л летальность составляла 50%. Показатели системного воспалительного ответа в свою очередь прямо достоверно коррелировали с концентрациями sFasL и TNFα ($p<0,01$).

Таким образом, основной вклад регулирующих апоптоз эффекторов систем Fas и TNFα в патогенез острейшего периода ИИ (1-3 сутки после манифестации ИИ) в большей мере определяется их вкладом в инициацию и развитие воспалительного ответа на ишемическое повреждение ткани головного мозга.

С течением времени прослеживалось уменьшение силы и достоверности корреляционных связей между концентрациями лигандов систем Fas и TNFα (на 1-е сутки $r= 0,366$, $p<0,01$, на 7-е сутки $r= 0,196$, $p<0,05$, на 21-е сутки $r= -0,093$, $p>0,01$). Это может свидетельствовать о расхождении направлений биологических эффектов sFasL и TNFα.

При изучении динамики концентраций указанных БАВ в периферической крови также наблюдалось их расхождение. К 7-м суткам исследования концентрация TNFα достоверно снижалась ($p<0,05$), и далее оставалась без динамики. Она продолжала отражать тяжесть неврологического дефекта ($r= 0,491$, $p<0,01$), оказывать влияние на темп восстановления ($r= 0,493$, $p<0,01$), достоверно коррелировала с концентрацией ИЛ-6 ($r= 0,318$, $p<0,01$), лимфоцитозом ($r= 0,301$, $p<0,01$). Концентрация TNFα переставала коррелировать с уровнем лейкоцитов ($r= 0,014$, $p>0,01$), что можно рассматривать как причину или следствие изменения характеристик воспалительного ответа.

Динамика концентрации sFasL была противоположной: на 7-е сутки отмечалось достоверное увеличение в общей группе пациентов с ИИ ($p<0,01$), которое определяла подгруппа неблагоприятного исхода ИИ ($p<0,01$). Концентрация sFasL отражала тяжесть неврологического дефекта ($r= 0,491$, $p<0,01$), темп восстановления ($r= 0,267$, $p<0,05$), величину лимфоцитоза ($r= 0,411$, $p<0,01$), концентрацию ИЛ-6 ($r= 0,695$, $p<0,01$). Необходимо отметить, что уровень нейтрофилов к этому сроку нормализовался до контрольных значений. Однако при этом концентрации ИЛ-6, TNFα, sFasL оставались выше контрольных значений ($p<0,01$).

Существенным фактором пролонгации гуморального провоспалительного ответа и высоких концентраций регулирующих воспаление и апоптоз факторов в периферической крови у пациентов с острым ИИ является специфический аутоагрессивный иммуногенный ответ. Его может инициировать нарушение проницаемости гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) при развитии ИИ (Скворцова В.И., 2005; Akamatsu Y. et al., 2021). После пика специфического иммуногенного ответа большинство антигенспецифических Т-клеток подвергается элиминации, важным механизмом которой является активационно-индуцированная гибель клеток. Она реализуется через активацию апоптоза лимфоцитов по Fas-зависимому пути, который развивается при взаимодействии трансмембранного Fas (CD95) с его лигандом.

В подгруппе пациентов с неблагоприятным исходом острого периода ИИ абсолютное содержание лимфоцитов и CD3+ лимфоцитов на 7-е сутки наблюдения достоверно увеличивалось, а к 21-м суткам оно достоверно понижалось. Таким образом, на 7-е сутки исследования в периферической крови у пациентов этой подгруппы было максимальное значение вышеуказанных параметров. Это указывает на пик специфического иммуногенного ответа на 7-е сутки, в отличие от «провала» его в подгруппе благоприятного исхода. Это происходило на фоне достоверного и гораздо более мощного, чем в подгруппе благоприятного исхода, повышения концентрации ИЛ-6, который играет важную роль в развитии адаптивного иммунного ответа за счет стимуляции выработки специфических антител и эффекторных Т-клеток (Tanaka T. Et al., 2014). Различия концентрации ИЛ-6 между подгруппами были достоверными. При этом выявлялись достоверные корреляционные связи между абсолютным содержанием лимфоцитов и CD3+ лимфоцитов на 7-е сутки и выраженностью неврологического дефицита как на том же сроке исследования, так и в исходе острого периода ИИ. Для абсолютного содержания CD3CD95+ лимфоцитов была характерна динамика противоположная таковой для лимфоцитов. К 7-м суткам исследования минимальное абсолютное содержание CD3CD95+ лимфоцитов обусловливало низкий уровень их апоптоза. Также этому способствовало и повышение концентрации ИЛ-6, который может ингибировать развитие апоптоза Т-лимфоцитов.

С учетом приведенных выше данных сформулирована рабочая гипотеза о том, что популяция CD3CD95+ лимфоцитов может быть буфером для растворимого sFasL и влиять на эффективность его взаимодействия с рецепторами на поверхности клеток, в том числе и нейронов головного мозга. «Емкость» этого буфера связана и отражает интенсивность специфического иммунного ответа. В связи с этим был введен новый показатель, отражающий «емкость буфера» системы Fas - sFasL- эффективность. Он рассчитывался как отношение в периферической крови концентрации sFasL к произведению концентрации sFas и абсолютному содержанию CD3CD95+ лимфоцитов. В острейшем периоде ИИ этот показатель не коррелировал ни с тяжестью неврологического дефицита, ни с темпом его восстановления и не был связан с показателями системного воспалительного ответа. На 7-е сутки исследования наблюдалась иная картина: с баллом по NIHSS $r= 0,244$, $p<0,05$, с темпом восстановления $r= -0,310$, $p<0,05$, с концентрацией ИЛ-6 $r= 0,570$, $p<0,01$ и TNFα $r= -0,222$, $p<0,05$, содержанием лимфоцитов $r= -0,222$, $p<0,05$ и CD3+ лимфоцитов $r= -0,757$, $p<0,01$. Это дает основание предполагать, что на 7-е сутки после ИИ основная роль регулирующих апоптоз факторов в патогенезе острого периода ИИ сопряжена с регуляцией аутоагрессивного иммунного ответа.

Величина показателя sFasL- эффективности периферической крови при остром ИИ была достоверно ниже во все сроки исследования, чем в группе контроля (p<0,01). Видимо, после развития ИИ, несмотря на достоверное повышение концентрации sFasL, эффективность взаимодействия этих лигандов со своими трансмембранными рецепторами и, соответственно, их патофизиологический и клинический эффект может регулироваться через вышепредставленный механизм.

На фоне этого в подгруппах с благоприятным и неблагоприятным исходами острого периода ИИ отмечались различия динамики для показателей обеих регулирующих апоптоз систем (Рисунок 4). В подгруппе с благоприятным исходом на 7-е сутки исследования происходило снижение, а с неблагоприятным – увеличение показателя sFasL эффективности (p<0,01). При ретроспективном анализе выявлялась его прогностическая значимость (r= - 0,473, p<0,01). К 21-м суткам при благоприятном исходе – показатель парадоксально увеличивался, а при неблагоприятном наоборот уменьшался (p<0,01).

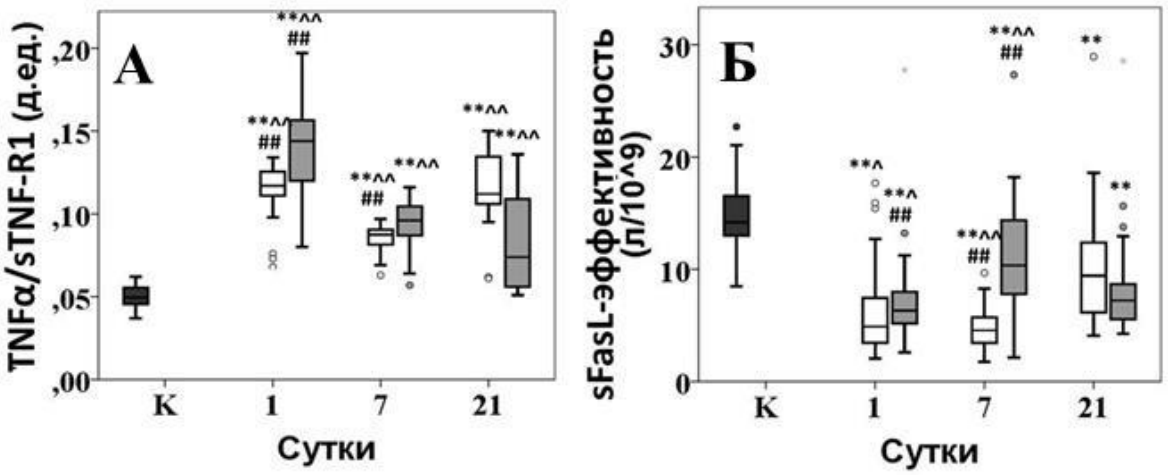

Рисунок 4 - Динамика показателей соотношения концентраций TNFα и sTNF-R1 (А), sFasL- эффективности (Б) в периферической крови пациентов с благоприятным (белые ящики) и неблагоприятным (серые ящики) исходом острого периода ИИ и в группе контроля (К) (здесь и далее: * - p-уровень отличия данных от контроля, # - p-уровень отличия данных от данных на следующие сутки исследования, ^- p-уровень отличия данных между подгруппами).

Соотношение концентраций растворимых лигандов и рецепторов обеих рассматриваемых регулирующих апоптоз систем достоверно увеличивались к исходу острого периода ИИ по сравнению с 7-ми сутками в подгруппе пациентов с благоприятным исходом, тогда как на 1-е сутки высокие значения этого параметра соответствовали плохому прогнозу (p<0,01).

Таким образом, роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений в патогенезе острого периода ИИ зависит от времени, прошедшего с момента

манифестации и определяет его исход. В острейшем периоде преимущественное направление регуляции сопряжено с локальным и системным воспалительным ответом, в исходе острого периода – с реализацией адаптивных саногенетических механизмов и процессов нейропластичности, обеспечивающих благоприятный исход острого периода ИИ. В острейшем периоде ИИ разделение исследованных БАВ на провоспалительные и апоптозиндуцирующие крайне условно и лишь отражает их принадлежность к той или иной искусственно выделенной систематической группе. Эффект их действия не может быть определен вне контекста суммарных условий среды, которые можно обозначить как «запрос системы на адаптацию».

Задаче выявления ключевых факторов модуляции патофизиологического и клинического эффекта и возможностей управления этими факторами посвящен следующий раздел настоящей работы.

Активация стресс-реализующей системы как фактор определяющий регуляцию апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта.

У пациентов при остром ИИ были выявлены определенные закономерности динамики эффекторов нейрогуморальных стресс-реализующих систем.

В острейшем периоде (1-е сутки наблюдения) у всех пациентов после ИИ наблюдалась преимущественная активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, сопровождающаяся скачкообразным ростом уровня ее гормонов относительно группы контроля (Таблица 5).

Таблица 5 - Концентрации в крови гормонов стресс-реализующей системы у пациентов в острейшем периоде ИИ (1-е сутки исследования) и в группе контроля

Параметр	Контроль	В общей выборке	Исход острого периода ИИ	
			Благоприятный	Неблагоприятный
АКТГ (пг/мл)	7,91 ± 1,88	15,60 ± 6,40**##	11,10 ± 4,22**^^#	18,61 ± 5,26**^^##
Кортизол (нмоль/л)	246,99 ± 45,68	507,90 ± 134,93**##	419,91 ± 163,37**^^##	568,23 ± 59,48**^^##
Адреналин (пг/мл)	62,05 ± 27,66	71,92 ± 26,64##	90,71 ± 28,68**^^	58,00 ± 21,04^^##
Норадреналин (пг/мл)	126,99 ± 14,51	125,44 ± 41,72##	138,80 ± 43,96^	120,42 ± 38,28^#

В последующие сроки исследования концентрация в крови кортизола у пациентов после ИИ независимо от исхода острого периода была также достоверно выше контрольных значений.

В подгруппе неблагоприятного исхода содержание кортизола и АКТГ было достоверно выше, чем в подгруппе благоприятного на протяжении всего острого периода ИИ ($p<0,01$). Вероятно, умеренное повышение концентрации кортизола в периферической крови после ИИ необходимо для метаболического и субстратного

обеспечения процессов, связанных с восстановлением и адаптацией. Однако, ее чрезмерное пролонгированное во времени увеличение имеет отрицательный патофизиологический эффект, что характерно для пациентов с неблагоприятным исходом ИИ.

При ретроспективном анализе было получено, что концентрации в крови всех исследованных на 1-е сутки гормонов влияют на исход острого периода ИИ. При этом активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы соответствовала увеличению выраженности неврологического дефицита ($r= 0,575$, $p<0,01$ для АКТГ и $r= 0,430$, $p<0,01$ для кортизола), а симпато-адреналовой – его уменьшению ($r= -0,445$, $p<0,01$ для А и $r= -0,237$, $p<0,05$ для НА).

Исходя из того, что полученные в исследовании концентрации в крови эффекторов стресс-реализующих систем не выходили за пределы значений общепопуляционных норм ни в одной подгруппе, их применение с целью прогноза исхода острого периода, а также оценки тяжести состояния после ИИ было сочтено нецелесообразным. При этом содержание кортизола и АКТГ достоверно коррелировали с баллом по HADS. Разбросы баллов по этой шкале у пациентов после ИИ имели широкий диапазон, выходя за пределы нормальных значений и при этом также достоверно коррелировали с выраженностью неврологического дефекта ($p<0,01$).

При построении графиков зависимости выраженности неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS в исходе острого периода ИИ и депрессии по шкале HADS на 7-е сутки исследования, а также зависимости выраженности неврологического дефекта в баллах по шкале NIHSS на 1-е сутки и депрессии по шкале HADS в исходе острого периода ИИ. Выявлено клинически значимое перекрестное прогностическое значение этих параметров. Уровень депрессии на 7-е сутки после манифестации ИИ в 12 баллов и выше по HADS является предиктором неблагоприятного исхода. Неврологический дефект при поступлении пациента с ИИ в стационар больше 10 по шкале NIHSS является важным предиктором развития депрессии в течение последующего острого периода ИИ (Рисунок 5).

Изучение взаимного влияния активации стресс-реализующих систем на гуморальный механизм регуляции апоптоза в остром периоде ИИ выявило следующие закономерности.

В острейшем периоде ИИ концентрации в периферической крови пациентов АКТГ и кортизола прямо и достоверно коррелировали как с показателями воспалительной реакции – содержанием лейкоцитов, лимфоцитов, CD3CD95+ лимфоцитов, ИЛ-6, так и с показателями регулирующих апоптоз эффекторов, за исключением sFasL-эффективности. Между показателями эффекторов регуляции

апоптоза, симпато-адреналовой системы и выраженности неврологического дефекта прослеживались статистически достоверные обратные корреляционные связи, в том числе и при ретроспективной оценке. Это свидетельствует о протекторной роли повышения концентрации А и НА в острейшем периоде ИИ.

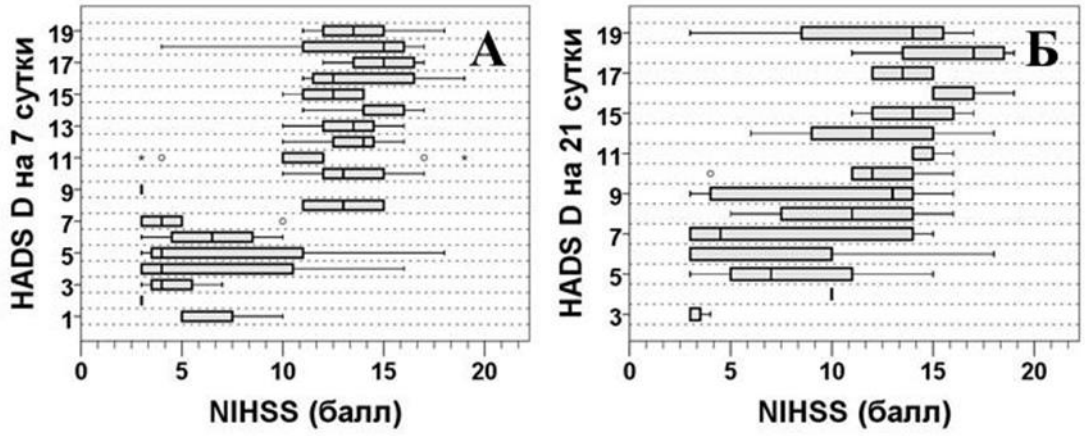

Рисунок 5 - Зависимость количества баллов по шкале экспресс-оценки депрессии HADS у пациентов с ИИ на 7-е сутки (А) и 21-е сутки (Б) пребывания в стационаре от выраженности неврологического дефицита (в баллах по шкале NIHSS) в 1-е сутки исследования.

На 7-е сутки показатель sFasL-эффективности прямо коррелировал с уровнями в крови АКТГ ($r= 0,449$, $p<0,01$), кортизола ($r= 0,655$, $p<0,01$) и ИЛ-6 ($r= 0,570$, $p<0,01$), а также - А ($r= 0,204$, $p<0,05$). На этом сроке А также, как и все остальные вышеперечисленные параметры, начинал прямо коррелировать в величиной неврологического дефицита ($r= 0,270$, $p<0,01$). Полученные прямые корреляционные связи свидетельствует в пользу включенности вышеперечисленных параметров в механизм гуморальной регуляции апоптоза, сопряженный с активностью специфического иммунного ответа. Об этом также свидетельствует и максимальное снижение значения sFasL-эффективности на этом сроке в группе благоприятного исхода ($5,11 \pm 3,20$ л/10^9) в противоположность пиковому значению в группе неблагоприятного ($10,92 \pm 4,74$ л/10^9).

В исходе острого периода ИИ концентрации АКТГ и кортизола в крови не коррелировали с выраженностью неврологического дефекта и показателями психоэмоционального состояния пациентов. С показателями гуморальной регуляции апоптоза выявлялась лишь одна положительная корреляция между содержанием в крови кортизола и соотношением концентраций sFasL/sFas ($r= 0,262$, $p<0,05$). При этом показатели систем Fas и TNFα (за исключением sFasL-эффективности) были связаны с уровнем ИЛ-6 ($p<0,01$), были достоверно положительно связаны с выраженностью неврологического и функционального дефицита и показателями психоэмоционального состояния.

Таким образом, закономерная активация стресс-реализующей системы является значимым фактором, определяющим механизмы регуляции апоптоза нейронов, клиническое течение и исход острого периода ИИ.

Закономерности изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в коре головного мозга при ИИ

При исследовании ткани коры головного мозга пациентов, которые умерли в остром периоде ИИ, в ней были выявлены закономерные структурные изменения. Характер этих изменений зависел от удаленности зоны исследования головного мозга от ишемического очага.

При визуальной оценке пространственной организации коры головного мозга на окрашенных по методике Ниссля и гематоксилином-эозином гистологических срезах в зоне 1 (прилежащей к некротической ткани) и в зоне 2 (находящейся на расстоянии 4-7 см от первой) выявлены изменения, характерные для ишемического повреждения. При морфометрическом исследовании - увеличение плотности расположения (Рисунок 6) и уменьшение доли поврежденных нейронов (в пересчете на 1 мм^2 поля зрения) по мере удаленности исследуемой зоны от некротического очага (Таблица 6). В 1-й зоне наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация.

Экспрессию белка p53, исходя из анализа литературы, связывают с инициацией каспазнезависимого и внутреннего каспазазависимого пути апоптоза, тогда как экспрессию каспазы 8 - с внешним путем активации каспазы 3, опосредованным регулирующими апоптоз лиганд-рецепторными взаимодействиями. В 1-й зоне соотношение долей нейронов, позитивных по этим белкам, было максимальным (1,154 (1,055;1,286)) (Рисунок 6). Что сопоставимо с литературными данными об усилении экспрессии p53 в ответ на критические изменения микроокружения клетки, сопровождающиеся развитием в ней относительного субстратного и энергетического дефицита (Tuo Q. et al., 2022), характерного для 1-й зоны.

Во 2-ой (0,476 (0,391;0,589)), 3-й зонах (0,552 (0,4;0,706)) и в группе контроля (0,549 (0,408;0,777)), напротив, преобладали каспаза 8 позитивные нейроны. Несмотря на то, что соотношение доли p53 и каспаза 8 позитивных нейронов в 3-ей зоне не отличалось достоверно от контрольных образцов, сами показатели долей в 3-ей зоне были достоверно выше контрольных значений ($p<0,01$). Это свидетельствует в пользу того, что 3-я зона является зоной повышенной активации интактной ткани (Таблица 7).

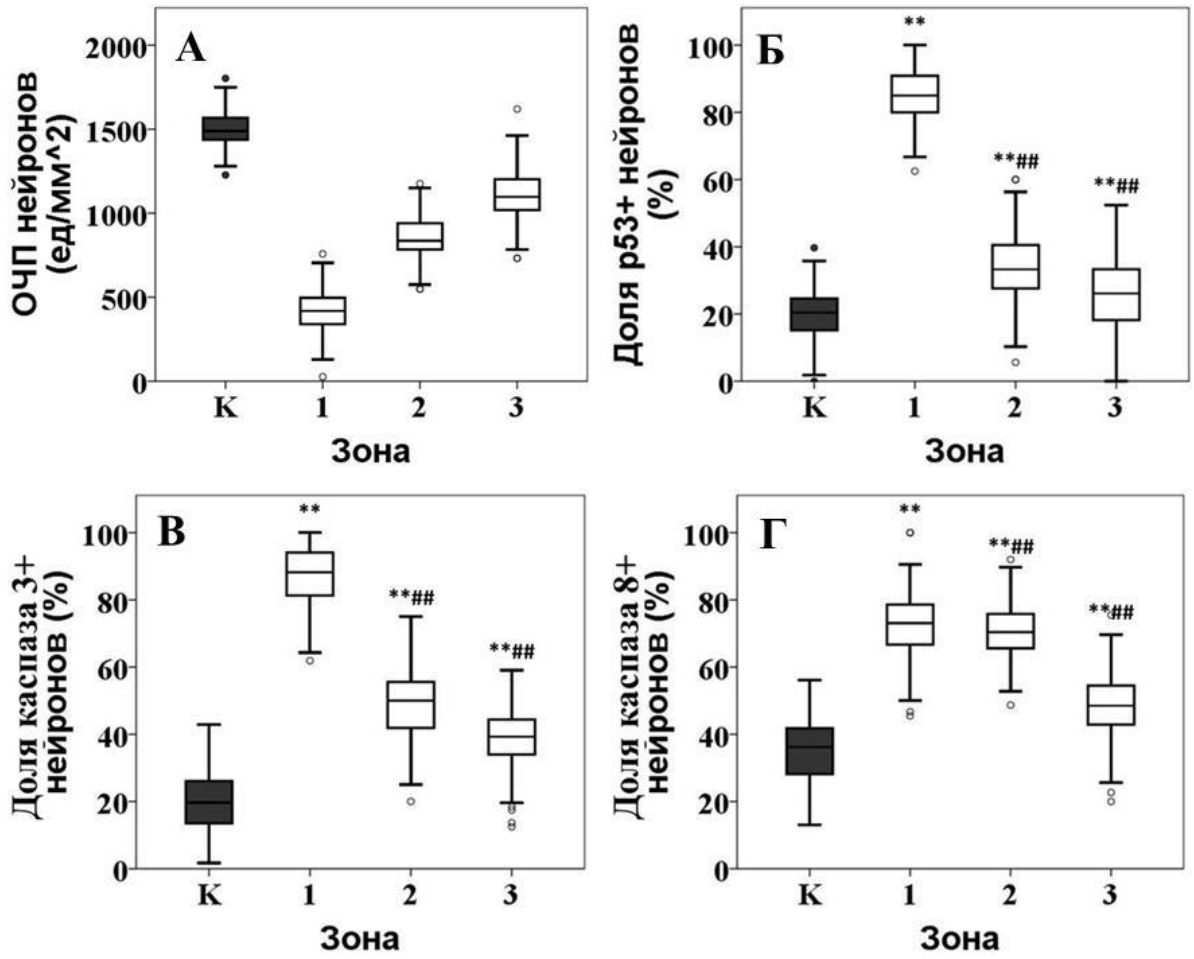

Рисунок 6 - Общая численная плотность нейронов (ед./мм^2) (А); доля p53 (Б), каспаза 3 (В) и каспаза 8 (Г) позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К)

Таблица 6 - Морфометрические характеристики зон коры головного мозга умерших пациентов с острым ИИ и в группе контроля.

ОЧП (ед./мм^2)	Контроль	Зона		
		1	2	3
Нейронов	1489 (1436,8;1567,4)	418 (339,6;496,3)**	835,9 (783,7;940,4)**##	1097,2 (1018,8;1201,7)**##
Поврежденных нейронов	182,9 (130,6;235,1)	391,8 (313,5;470,2)**	627 (548,6;705,3)**##	156,7 (104,5;209)*##
Клеточных элементов	2298,9 (2089,9;2534)	1462,9 (1175,5;1724,1)**	1306,2 (1149,4;1462,9)**##	1724,1 (1593,5;1880,9)**##

Таблица 7 - Доля нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы в коре головного мозга пациентов с острым ИИ и в группе контроля.

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

Доли каспаза 3 и p53 позитивных нейронов коррелировали в 1-й и 3-й зонах (соответственно, r= 0,189, p<0,01 и r= 0,187, p<0,01). Следовательно, преимущественным путем реализации апоптоза в этих зонах является «внутренний». Во 2-й зоне наблюдалась корреляция доли каспаза 3 и каспаза 8 позитивных нейронов (r= 0,154, p<0,05), что было расценено как свидетельство реализации преимущественно «внешних» апоптотических механизмов.

Доля нейронов, экспрессирующих рецепторы запуска «внешнего» пути апоптоза Fas коррелировала с долей каспаза 8 позитивных нейронов только в 3-й зоне (r= 0,174, p<0,05). Fas – один из нескольких рецепторов, связанных с активацией каспазы-8 (Orning P., Lien E. 2021). Такие результаты свидетельствуют, что лишь в 3-ей зоне этот путь - основной в активации каспазы-8. Исходя из факта отсутствия корреляционных связей между долями Fas и каспаза 3 позитивных нейронов, а также каспаза 3 и каспаза 8 позитивных нейронов – сигнальный путь, активация которого сопряжена с лиганд-рецепторными взаимодействиями системы Fas, может не приводить к активации каспазы 3 и, соответственно, реализации клеточной гибели в 3-й зоне. Полученный результат подтверждает экспериментальные данные других авторов о плейотропности эффектов активации рецептора Fas при других патологических состояниях (Guégan J. P. et al., 2020).

При морфометрическом анализе выявлено, что доля Fas-позитивных нейронов в 3-й зоне достоверно выше, чем в контрольных образцах. Также выявлено снижение представленности Fas-позитивных нейронов, увеличение доли FasL-позитивных нейронов и уменьшение доли FasL-позитивных NSE-негативных клеток по мере удаления от очага некроза (Таблица 8).

Представленность мембранной формы лиганда системы Fas в коре головного мозга (Рисунок 7) коррелировала с концентрацией растворимой формы этой молекулы, а так же с соотношением sFasL и sFas в периферической крови пациентов в острейшем периоде ИИ. Так, для sFasL коэффициенты корреляции составили для зоны 1 - r= 0,222, для зоны 2 - r= 0,438, для зоны 3 - r= 0,289, p<0,01, а для соотношения sFasL и sFas соответственно r= 0,231, r= 0,266 и r= 0,281, p<0,01.

Таблица 8 - Доля нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы системы Fas в коре головного мозга пациентов с острым ИИ и в группе контроля.

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

Экспрессию FAIM2 в нейронах ассоциируют с противодействием внешней Fas-зависимой и внутренней передаче сигналов апоптоза (Habib P. et al., 2019). После ИИ в 1-й и 3-й зонах доля нейронов, экспрессирующих этот белок снижалась по сравнению с контрольными образцами (Рисунок 7). Во 2-й зоне отмечено их максимальное количество, соответствующее контрольным значениям (Таблица 7). Выявлены обратные корреляционные связи доли FAIM2 позитивных нейронов: в 3-й зоне с долей p53 ($r= -0,177$, $p<0,05$) и во 2-й – с долей каспаза 3 позитивных нейронов ($r= -0,183$, $p<0,05$). Они свидетельствуют о возможном наличии регуляторного механизма, связанного с перераспределением энергии, субстратов и обеспечивающего альтернативу: p53-опосредованная гибель или адаптация и выживание, сопряженные с экспрессией FAIM2. Закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ связаны с их уровнем обеспечения энергией и субстратами.

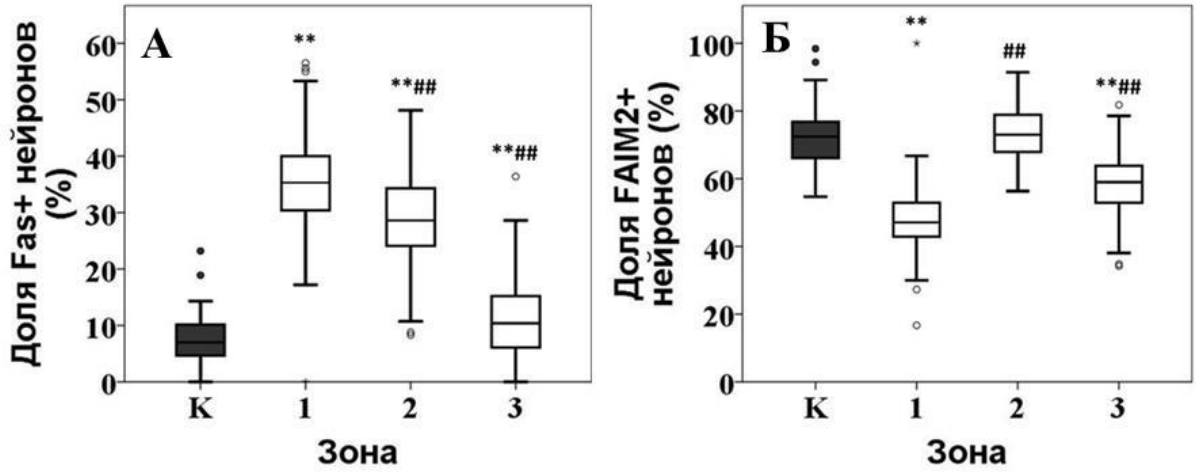

Рисунок 7 - Доля Fas (А) и FAIM2 (Б) позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К)

Все конкурирующие эффекты регулирующих апоптоз факторов можно свести к двум ключевым направлениям: адаптация к среде микроокружения или, при невозможности первого, к реализации клеткой суицидальных программ. Поэтому в ходе патоморфологического исследования были также изучены закономерности экспрессии в нейронах коры головного мозга белков c-fos, ERK1/2, MAP2, Notch1, связанных с регуляцией ответа нейронов на изменение микроокружения (Таблица 9).

Доля экспрессирующих белок c-fos нейронов была наибольшей в зоне 2, что достоверно отличалось как от группы контроля, так и от показателей других зон. ERK1/2 и MAP2 имели схожие закономерности экспрессии, отличные от группы контроля. Наибольшая представленность Notch1 позитивных нейронов отмечалась в 1-й зоне, по мере удаления рассматриваемого образца от очага ишемии их доля достоверно снижалась ($p<0,01$) (Рисунок 8).

Таблица 9 - Доля нейронов, экспрессирующих молекулы, регулирующие ответ нейронов на изменение микроокружения, в коре головного мозга пациентов при остром ИИ и в группе контроля.

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

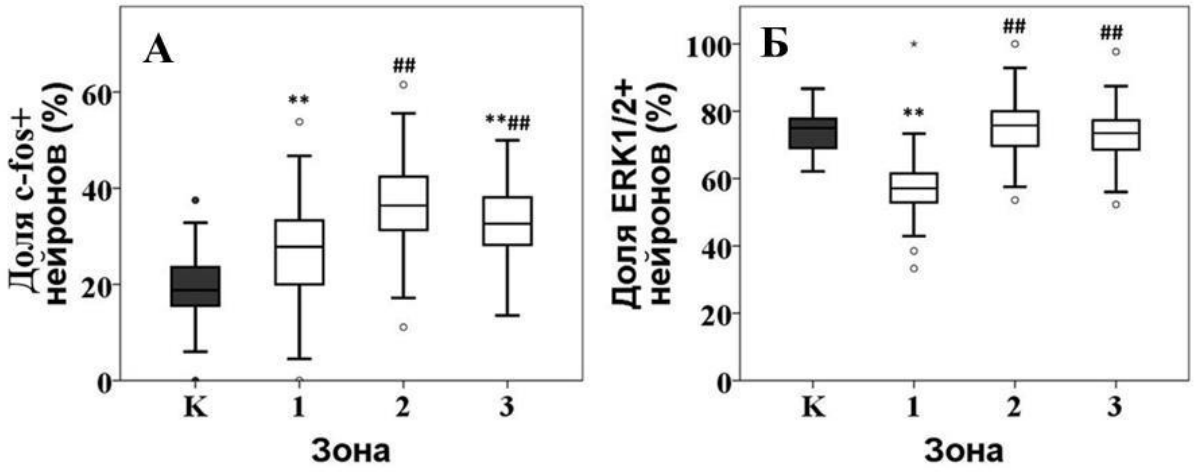

Рисунок 8 - Доля c-fos (А) и ERK1/2 (Б) позитивных нейронов в образцах коры головного мозга пациентов после ИИ и группы контроля (К)

Были выявлены достоверные положительные корреляционные связи между долей ERK1/2 и c-fos-позитивных нейронов в 1-й и 2-й зонах (соответственно r= 0,277 и r= 0,211, p<0,01) Во 2-й зоне взаимное увеличение доли экспрессирующих вышеуказанные маркеры нейрональной активации клеток сопровождалось положительной корреляционной связью доли экспрессирующих маркерный белок нейрональной дифференцировки MAP2 с долей FAIM2-позитивных нейронов (r= 0,160, p<0,05). При этом отмечена достоверная отрицательная корреляционная связь между долями MAP2 и каспаза 3 позитивных нейронов (r= -0,165, p<0,05), что может также свидетельствовать о противопоставлении процессов активации и дифференцировки реализации апоптоза на уровне нейрона.

В 1-й зоне минимальная представленность FAIM2 и ERK1/2, а также маркера нейрональной дифференцировки MAP2 в совокупности с максимальной представленностью каспаза 3, каспаза 8, p53, Notch1 позитивных нейронов позволяет сделать заключение о снижении диапазона адаптационных решений и повышении вероятности апоптоза нейронов в ответ на любое изменение их микроокружения.

Минимальное по сравнению с другими зонами энергообеспечение нейронов приводит к максимальным изменениям показателей микроокружения. 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. Такое изменение совокупности факторов среды микроокружения нейронов, которое можно обозначить как «запрос на адаптацию», определяет снижение стабильности системы на любом уровне рассмотрения.

Для 2-й зоны также закономерно изменение лиганд-рецепторных взаимодействий системы Fas и снижение стабильности системы. Это является результатом усиления атаки апоптозиндуцирующими лигандами (что отражается увеличением концентраций sFasL и sFas в периферической крови), увеличения представленности FasL-позитивных ненейрональных клеток и увеличения способности к ее восприятию за счет увеличения экспрессии трансменбранных рецепторов к ним. Максимальная по сравнению с другими зонами доля FAIM2-позитивных нейронов свидетельствует о максимальном расширении диапазона возможных адаптационных решений. Об этом свидетельствует снижение доли каспаза 3, каспаза 8, p53, а также Notch1-позитивных нейронов и максимальная представленность нейронов, экспрессирующих маркеры клеточной активации (c-fos, ERK1/2). Эта зона обладает высоким потенциалом для восстановления функциональных нейронных связей. Однако, риски гибели нейронов при изменении условий микроокружения здесь также высокие.

В 3-й зоне диапазон возможных адаптационных решений ниже, чем во второй, о чем свидетельствует уменьшение представленности FAIM2-позитивных 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 каспаза 3, каспаза 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 инициации апоптоза в этой зоне. Доля ERK1/2 позитивных нейронов не отличалась от контрольных значений, но доля c-fos-позитивных нейронов свидетельствует о повышенной активации.

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 активации нейронов практически не соотносилась с концентрацией

исследуемых маркеров периферической крови: достоверная корреляционная связь выявлена лишь между долей Notch1 позитивных нейронов и концентрацией адреналина (r= -0,148, p<0,05). В зоне 3 доля c-fos позитивных нейронов коррелировала с соотношением концентраций TNFα 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). С концентрацией кортизола в периферической крови пациентов, которые умерли в острейшем периоде ИИ коррелируют: доля каспаза 3 позитивных нейронов во 2-й (r= 0,263, p<0,01) и 3-й (r= 0,383, p<0,01) зонах, доля FAIM2 (r= -0,177, p<0,05) и FasL -позитивных нейронов (r= -0,212, p<0,01) во 2-й зоне. Из чего следует, что повышенная относительно подгруппы благоприятного исхода концентрация кортизола у пациентов, умерших в остром периоде ИИ ограничивает диапазон адаптивных решений и стабильность систем всех возможных уровней рассмотрения. Ограничение это, вероятно, реализуется посредством общих с патогенезом депрессии механизмов.

Опираясь на полученные данные можно сделать предположение о том, что для 1-й зоны из всех исследованных параметров наиболее вероятной мишенью терапевтического воздействия является сигнальный путь Notch1, активация которого в нейронах 1-й зоны соотносится со степенью агрессивности регулирующих апоптоз равновесий системы Fas и увеличением в крови концентрации адреналина. Для 3-й зоны ключевым параметром является доля экспрессирующих белок c-fos нейронов, который связан с активностью провоспалительного апоптозиндуцирующего фактора TNFα в периферической крови, а также с интенсивностью ответа стресс-реализующей системы.

Таким образом, плейотропные 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. 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 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 (Рисунок 9).

Выбор направления в вилке возможностей «адаптация или смерть» определяется суммарным сочетанием воздействия внешних и внутренних факторов, которое кратко можно обозначить как «запрос на адаптацию». При этом внутренние факторы являются следствием воздействия внешних в прошлом.

Рисунок 9 - Схема влияния совокупности факторов микросреды окружения (серая стрелочка) нейрона (треугольник) на выбор реализуемых в нем регулирующих апоптоз сигнальных каскадов (черные стрелочки).

Основные факторы, определяющие компоненты микроокружения нейрона и его энергообеспечение в остром периоде ИИ: время с момента развития сосудистой катастрофы, пространственная локализация нейрона относительно очага ишемии, включенность нейрона в функционально активные сети.

Таким образом, апоптоз нейронов является неспецифическим механизмом адаптации к последствиям ишемии головного мозга. 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) апопоза необходимо определение уровня рассмотрения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социальная адаптация пациента) и критериев адаптивности ее ответа, соответствующих этому уровню (Рисунок 10).

Основной принцип управления механизмами регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ заключается в последовательной модификации совокупности параметров микросреды их окружения посредством целенаправленного моделирования и последовательной модификации совокупности факторов реабилитационной макросреды окружения пациента.

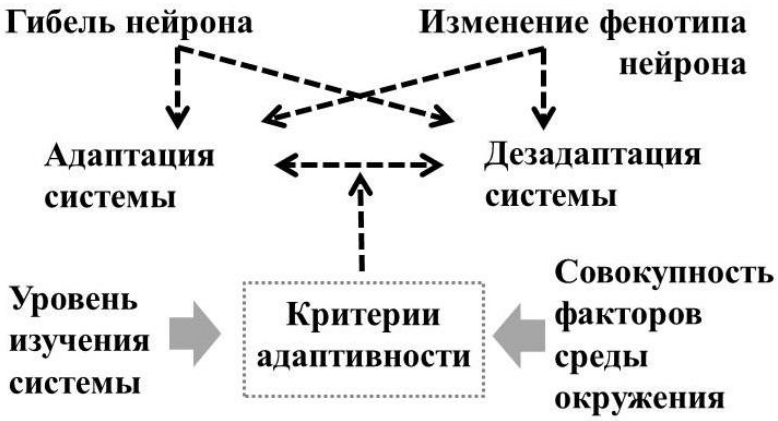

Рисунок 10 - Схема влияния субъективных факторов, выявленных врачом или исследователем, на значение результата реализации механизмов апоптоза нейронов коры головного мозга пациентов в остром периоде ИИ.

Выводы

1. Для острого периода ИИ характерно закономерное увеличение концентрации в крови растворимых регулирующих апоптоз факторов sFasL, sFas и TNFα по сравнению с контролем. При этом для растворимых эффекторов системы Fas свойственно прогредиентное нарастание их концентрации в течение всего острого периода, а для эффекторов системы TNFα 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±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±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 выше 12 баллов 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 состояния 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 плейотропную роль регулирующих его лиганд-рецепторных взаимодействий. Так же то, что на выбор реализуемого

процесса влияет совокупность факторов микрооокружения 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 апопоза 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 выше 12 баллов 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология и 3.1.24. Неврология и приравненные к ним публикации

1. Сергеева, С.П. К механизму Fas-индуцированного апоптоза нейронов в патогенезе ишемического инсульта / С.П. Сергеева, П.Ф. Литвицкий, М.М. Гультяев, А.А. Савин, И.Д. Бреславич // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 3.- С.15-18.

2. Патент 2517471 Российская Федерация, МПК G 01 N 33/53. Способ прогнозирования исхода острого периода ишемического инсульта / С.П. Сергеева, П.Ф. Литвицкий, М.М. Гультяев, А.А. Савин, И.Д. Бреславич; 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.

3. Сергеева, С.П. Изменение соотношения уровней растворимых TNF-альфа и TNF-R1 в крови как одно из ключевых звеньев патогенеза, диагностический и прогностический показатель при ишемическом инсульте / С.П. Сергеева, П.Ф. Литвицкий, И.Д. Бреславич, М.М. Гультяев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – № 1. - С. 13-17.

4. Сергеева, С.П. Лиганд-рецепторные взаимоотношения апоптоз-индуцирующих молекул у пациентов после ишемического инсульта / С.П. Сергеева, П.Ф. Литвицкий, И.Д. Бреславич // Клиническая патофизиология. –2014. - № 2. - С. 15-19.

5. Сергеева, С.П. Динамика и прогностическое значение содержания CD3CD95 лимфоцитов, растворимых fas рецептора и fas лиганда в периферической крови после ишемического инсульта / С.П. Сергеева, И.Д. Бреславич, Л.М. Ерофеева, М.М. Гультяев // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2014. – Т. 13, № 2. - С. 56-61.

6. Сергеева, С.П. Роль системы Fas в патогенезе ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116, № 3, Вып. 2 - С. 3-8.

7. Сергеева, С.П. Изменения структуры нейронов и астроцитов серого вещества головного мозга при его острой локальной ишемии у человека / С.П. Сергеева, Л.В.

Шишкина, П.Ф. Литвицкий, И.Д. Бреславич, Е.В. Виноградов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2016. - Т. 60, № 4. - С. 4-8.

8. Сергеева, С.П. Некоторые аспекты морфологии нервной ткани головного мозга после острого нарушения мозгового кровообращения / С.П. Сергеева, Л.М. Ерофеева, Л.В. Шишкина, П.Ф. Литвицкий, Е.В. Виноградов // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т. 23, №. 3. - С. 130–135.

9. Sergeeva, S.P. Fas Role in Ischemic Stroke: Not Only in Apoptosis / S.P. Sergeeva, L.R. Gorbacheva, I.D. Breslavich, M.A. Cherdak // Journal of Molecular and Genetic Medicine. – 2016. - V.10, № 4. - С. 1-6.

10. Сергеева, С.П. Прогнозирование исхода острого периода ишемического инсульта: роль маркеров апоптоза / С.П. Сергеева, А.А. Савин, В.В. Архипов, М.М. Гультяев, И.Д. Бреславич, П.Ф. Литвицкий // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2017.- Т.11, № 1. – С. 21-27.

11. Сергеева, С.П. Головной мозг после ишемического инсульта: клинико-гистологическое исследование / С.П. Сергеева, А.А. Савин, Л.В. Шишкина, Е.В. Виноградов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 3, Вып. 2. – С. 55-59.

12. Сергеева, С.П. Роль апоптотических факторов в повреждении нервной ткани и восстановлении ее функционирования после ишемического инсульта / С.П. Сергеева, Л.М. Ерофеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий, Л.В. Шишкина, В.В. Архипов // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т. 2, № 14. – С. 156–163.

13. Сергеева, С.П. Апоптоз как системный адаптивный механизм при ишемическом инсульте / С.П. Сергеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий, А.В. Люндуп, Е.В. Киселева, Л.Р. Горбачева, И.Д. Бреславич, К.И. Куценко, М.В. Балясин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 118, №12, Вып. 2. – С. 38-45.

14. Сергеева, С.П. Уровень интерлейкина 6 в остром периоде ишемического инсульта: влияние на темп восстановления пациентов и выраженность неврологического дефекта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, И.Д. Бреславич, П.Ф. Литвицкий, В.В. Архипов // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2018. – Т. 10, №3. - С. 29-35.

15. Сергеева, С.П. Закономерности экспрессии белков c-fos, ERK1/2, MAP2, NOTCH1 в нейронах коры головного мозга человека после ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.В. Люндуп, В.В. Береговых, П.Ф. Литвицкий, А.А. Савин, Л.Р. Горбачева, Е.В. Киселева, И.Д. Бреславич, К.И. Куценко, Л.В. Шишкина // Вестник РАМН. – 2020. – Т. 75, № 3. – С. 226-233.

16. Сергеева, С.П. Нейрогуморальный ответ и активность Fas-лиганда периферической крови в остром периоде ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А.

Савин, П.Ф. Литвицкий, А.В. Люндуп, И.Д. Бреславич, З.Ш. Манасова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2020. - Т. 120, № 6. – С. 57 – 63.

17. Бабкина, И.И. Роль транскрипционного фактора NF-κB в нейровоспалении / И.И. Бабкина, С.П. Сергеева, Л.Р. Горбачева // Нейрохимия. – 2021. – Т. 38, №. 2. – С. 111-126. (Babkina, I.I. The Role of NF-κB in Neuroinflammation / I.I. Babkina, S.P. Sergeeva, L.R. Gorbacheva // Neurochemical Journal. – 2021. – Т. 15, № 2. – С. 114-128.)

18. Сергеева, С.П. Закономерности активации стресс-реализующей системы и ее влияние на течение и исход острого периода ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий, В.В. Архипов, Д.Д. Джумагулова, З.Ш. Манасова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2022. – №. 2.- С. 6-12.

Иные публикации по теме диссертационного исследования

19. Сергеева, С.П. Апоптоз в развитии церебральной ишемии / С.П. Сергеева // Актуальные проблемы патофизиологии. Сборник научных трудов под общей редакцией профессора В.В. Моррисона. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2011. – С. 77-83.

20. Литвицкий, П.Ф. Патофизиологическая значимость стрессовой гипергликемии у пациентов с ишемическим инсультом / П.Ф. Литвицкий, Н.Ф. Нуралиева, С.П. Сергеева // Сеченовский Вестник. - 2014. – Т. 15, № 1.- С. 47-54.

21. Ерофеева, Л.М. Морфофункциональные изменения головного мозга человека после ишемического инсульта / Л.М. Ерофеева, С.П. Сергеева // Материалы объединенного XII конгресса международной ассоциации морфологов и VII съезда всероссийского научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов. Морфология. - 2014. - Т. 145, № 3. - С. 72.

22. Сергеева, С.П. Клеточный иммунный ответ и цитокиновый профиль после острого нарушения мозгового кровообращения в динамике / С.П. Сергеева // Сборник научных трудов международной научной конференции "Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии" (Москва, 16-17 апреля 2014 г.) – М., 2016 - С. 251-253.

23. Сергеева, С.П. Fas-индуцированный апоптоз играет значимую роль в патогенезе ишемического инсульта / С.П. Сергеева // Сборник тезисов научно-практической конференции «Современная диагностика и лечение в практической неврологии» (Москва, 8-9 октября 2015 г.). – М., 2015. - С. 19-22.

24. Сергеева, С.П. Прогнозирование исхода острого периода ишемического инсульта по соотношению молекул системы fas / С.П. Сергеева, А.А. Савин // Сборник трудов III Национального конгресса «Неотложные состояния в неврологии» (3 - 4 декабря 2015 г.) – М., 2015. – С. 54.

25. Ерофеева, Л.М. Морфофункциональная характеристика головного мозга после ишемического инсульта / Л.М. Ерофеева, С.П. Сергеева, Л.В. Шишкина // 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.

26. Сергеева, С.П. Влияние факторов индукции апоптоза на клиническое течение ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий, В.В. Архипов // Материалы Международного конгресса, посвященного Всемирному дню инсульта / под ред. Е.И. Гусева, А.Б. Гехт, М.Ю. Мартынова. – М., 2017. - С. 653.

27. Sergeeva, S.P. The morphology of cerebral cortex ganglionic layer in ischemic stroke / S.P. Sergeeva, L.M. Erofeeva, M.V. Balyasin // The 10th International Clinical and Applied Anatomy Symposium (Moscow, 2018). Morphology. – 2018. – V. 153, № S3. – P. 96.

28. Сергеева, С.П. Роль апоптотических факторов в повреждении нервной ткани головного мозга при ишемическом инсульте / С.П. Сергеева, Л.М. Ерофеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий, Л.В. Шишкина // Материалы научно-практической конференции, посвященной 60-летию организации кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ «Актуальные проблемы гистологии, цитологии и эмбриологии» (Гродно, 22 июня 2018 г.) - Гродно, 2018 - С. 140-143.

29. Сергеева, С.П. Влияние стресса и воспаления на выраженность апоптоза в головном мозге и клинический исход острого периода ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, П.Ф. Литвицкий // Материалы конференции с международным участием “Достижения нейронаук и новые направления в диагностике и лечении болезней мозга» (Москва, 2018 г.) – М., 2018. – С. 217.

30. Сергеева, С.П. Темп восстановления – наиболее эффективный показатель для оценки влияния различных факторов на клиническое течение инсульта. / Сергеева С.П., Аникина М.А., Савин А.А., Савин Л.А., Литвицкий П.Ф. // Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (СПб, 15-19 июня 2019 г.). Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т119., № 5, – С. 465-466.

31. Сергеева, С.П. Влияние нейрогуморального ответа на течение острого периода ишемического инсульта / С.П. Сергеева, А.А. Савин, Л.А. Савин, М.А. Аникина, П.Ф. Литвицкий // Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (СПб, 15-19 июня 2019 г.). Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 5. – С. 466-467.

32. Сергеева С.П. Закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов в острейшем периоде ишемического инсульта, соответсвующего этапу

нейрореанимации / С.П. Сергеева, П.Ф. Литвицкий, А.А. Савин, З.Ш. Манасова // Материалы XX Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 13-14 ноября 2020 г.). – М., 2020. — С. 85-86.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

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)

TNFα – фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor α)