

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИКО-СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. А.И. ЕВДОКИМОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ и ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ»  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

На правах рукописи

ОХТОВА ФАТИМА РАМАЗАНОВНА

ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ И ПОКАЗАТЕЛИ  
КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА  
(КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

14.01.11 - нервные болезни

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор  
М.Ю. Максимова

Научный консультант:  
кандидат биологических наук  
Л.В. Комелькова

Москва – 2014



**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ОГЛАВЛЕНИЕ .....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	10
1.1.Эпидемиологические аспекты инсульта .....	10
1.2. Концепция гетерогенности причин инсульта .....	10
1.3. Патофизиологические процессы при ишемии мозга .....	11
1.4. Концепции о взаимодействии нервной и иммунной системы.....	13
1.5. Роль воспалительных и противовоспалительных цитокинов в патогенезе ишемического инсульта .....	14
1.6. Маркеры состояния ткани мозга .....	20
1.7. Иммунный статус.....	23
1.8. Молекулы межклеточного взаимодействия.....	31
Заключение .....	35
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования .....	38
2.1 Клинико-неврологическое обследование больных.....	40
2.2. Методы исследования клеточного и гуморального иммунитета .....	41
2.3. Определение содержания растворимых молекул адгезии .....	44
2.4 Статистический анализ данных.....	47
ГЛАВА 3. Результаты исследования.....	49
3.1. Клиническая характеристика больных с ишемическим инсультом.....	49
3.2. Иммунологические изменения в остром периоде ишемического инсульта .....	53

3.3. Факторы межклеточного взаимодействия при ишемическом инсульте...	62
3.4. Показатели гемостаза при ишемическом инсульте .....	73
ГЛАВА 4. Обсуждение .....	78
ВЫВОДЫ.....	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	89
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	107

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Острые нарушения мозгового кровообращения продолжают доминировать в структуре сосудистых заболеваний головного мозга [19].

Исследования последних лет показали сложность и многогранность патогенеза ишемического инсульта. Изучение роли иммунологической реактивности при локальной ишемии мозга было положено серией экспериментальных работ, выполненных под руководством академика РАМН И.В.Ганнушкиной [2,6,8]. Полученные данные позволили установить влияние исходного иммунного статуса на характер изменения ткани мозга при его ишемии. Последующие работы, обобщающие данные экспериментальных и некоторых клинических исследований, позволили сформулировать концепцию, согласно которой развитие ишемии мозга сопровождается сложным ответом нейроиммуноэндокринной системы [10,13,34].

Каскад взаимосвязанных быстрых и отсроченных реакций при ишемии мозга представляет собой ответ единой стресс-реализующей системы, важным и необходимым компонентом которой являются иммунокомпетентные клетки и гуморальные факторы. В патогенезе ишемии мозга важная роль принадлежит развитию аутоиммунной агрессии, апоптоза, локальной воспалительной реакции [15].

Вопрос о том, какие факторы запускают адгезию клеток к сосудистому эндотелию, остается до конца не раскрытым. Показано, что при ишемии мозга фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкин- $1\beta$  высвобождаются из нейронов, что вызывает каскад событий с активацией эндотелия и тромбоцитов и повышением уровней факторов межклеточной адгезии. В свою очередь, молекулы межклеточной адгезии участвуют в процессе проникновения клеток иммунной системы в ткань головного мозга, а также во взаимодействии эффекторных клеток с клетками-мишенями [90].

Несмотря на большое число работ по этой проблеме, до сих пор мало клинических исследований с комплексной оценкой факторов клеточного и гуморального иммунитета и динамики показателей иммунного статуса у больных в остром периоде ишемического инсульта. Опубликовано мало данных, подтверждающих роль молекул адгезии в развитии иммунного ответа и процессов, связанных с нарушением функции эндотелия, при ишемии мозга. Методы определения факторов межклеточного взаимодействия остаются малодоступными в связи с большой трудоемкостью их выполнения и высокой стоимостью тест-систем.

Поиск новых патогенетических факторов клеточного и гуморального иммунитета, влияющих на течение острого периода инсульта, и явился предметом выполненного исследования.

### **Цель исследования**

Уточнить значение изменений клеточного и гуморального иммунитета, факторов межклеточного взаимодействия в остром периоде ишемического инсульта.

### **Задачи исследования**

1. Изучить клинические особенности течения острого периода ишемического инсульта.
2. Уточнить изменение фенотипического состава лимфоцитов крови (содержания основных субпопуляций, экспрессии активационных маркеров лимфоцитов), а также факторов гуморального иммунитета (содержание иммуноглобулинов - классы IgG, IgA, IgM и трех фракций циркулирующих иммунных комплексов) в остром периоде ишемического инсульта.
3. Исследовать количественный состав растворимых молекул адгезии (sICAM-1 (CD54); sPECAM-1 (CD31); sVCAM-1 (CD106); sPselectin (CD31P); sEselectin (CD62)) в остром периоде ишемического инсульта.

4. Установить взаимосвязь между характером нарушений клеточного и гуморального звена иммунитета и показателями гемостаза в остром периоде ишемического инсульта.
5. Выявить иммунологические факторы, определяющие течение острого периода инсульта.

### **Научная новизна**

Комплексный подход к изучаемой проблеме с привлечением современных методов диагностики, разделением пациентов на подгруппы в зависимости от подтипа и тяжести инсульта, исследование показателей клеточного звена иммунной системы и гуморального иммунитета позволяет получить новые данные об изменении иммунного ответа при ишемическом инсульте.

Данные исследования доказывают вовлечение иммунной системы в сложный комплекс реакций, участвующих в развитии инфарктов мозга и дисфункции эндотелия.

Изменения иммунного статуса в острейшем периоде ишемического инсульта, представлены лейкоцитозом с лимфопенией, сочетанием признаков дисрегуляции и иммунодефицита клеточного и гуморального звеньев иммунитета, что может предрасполагать к развитию осложнений, связанных, как с иммунной недостаточностью, так и с аутоиммунными проявлениями.

Полученные в работе результаты свидетельствуют об участии факторов межклеточного взаимодействия (sICAM-1 (CD54); sPECAM-1 (CD31); sVCAM-1 (CD106); sPselectin (CD31P); sEselectin (CD62)) в развитии иммунного ответа при инфаркте мозга и активации гемостаза.

Установлена взаимосвязь между нарушениями клеточного и гуморального звена иммунитета и показателями гемостаза в остром периоде ишемического инсульта.

## **Практическая значимость**

Полученные данные по исследованию показателей клеточного звена иммунной системы и некоторых показателей гуморального иммунитета, включая факторы межклеточного взаимодействия, могут являться дополнительным критерием тяжести и прогноза течения ишемического инсульта.

Установлено, что активация факторов межклеточного взаимодействия возникает уже на ранних стадиях ишемического инсульта.

Включение исследования факторов межклеточного взаимодействия в спектр лабораторных исследований позволяет прогнозировать течение острого периода ишемического инсульта.

Полученные в работе данные о развитии в остром периоде ишемического инсульта иммунодепрессии предполагают повышенную восприимчивость этих больных к развитию инфекционных осложнений. В связи с этим оценка параметров иммунной системы больных с ишемическим инсультом имеет практическое значение в комплексе профилактических и лечебных мероприятий.

Повышенная экспрессия молекул адгезии при ишемическом инсульте, осложненном сахарным диабетом, обуславливает особый подход к коррекции нарушений гемостаза и нейроиммуноэндокринных процессов.

Учитывая полученные данные, можно полагать, что средства, блокирующие межклеточную адгезию, имеют большое значение для разработки новых подходов к лечению ишемического инсульта.

## **Положения, выносимые на защиту**

1. Течение инсульта определяется тяжестью неврологических нарушений, величиной и локализацией инфарктов мозга, дисрегуляцией клеточного и гуморального звеньев иммунитета, активацией факторов межклеточного взаимодействия и гемостаза.

2. В остром периоде ишемического инсульта наблюдается количественное и качественное изменение иммунного статуса: лейкоцитоз с лимфопенией, уменьшение зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), иммунорегуляторных субпопуляций – Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), высокий уровень экспрессии активационных маркеров лимфоцитов (CD25+, CD95+, CD45R0+/R0, T-НК, HLA-DR+). У 33% больных выявлено снижение содержания IgG.
3. Начало острого периода ишемического инсульта характеризуется повышением уровней всех факторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови и активацией гемостаза.
4. При ишемическом инсульте, осложненном сахарным диабетом, обнаружена максимальная экспрессия молекул адгезии.
5. Положительная динамика неврологических нарушений в остром периоде инсульта коррелирует с уменьшением уровней молекул межклеточной адгезии. При тяжелом течении ишемического инсульта уровень молекул адгезии остается высоким.

## **ГЛАВА 1. Обзор литературы**

### **1.1. Эпидемиологические аспекты инсульта**

На сегодняшний день острые нарушения мозгового кровообращения продолжают доминировать в структуре сосудистых заболеваний головного мозга.

В мире ежегодно инсульт переносят около 6 миллионов человек [12]. По данным регистра инсульта, в Российской Федерации ежегодно инсульт переносят более 400 тысяч человек [5]. Несмотря на активное изучение этой проблематики, как в Российской Федерации, так и за рубежом, острые НМК продолжают занимать второе место среди причин смертности, уступая смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и лидирующее - среди причин инвалидизации взрослого населения [41].

В остром периоде ишемического инсульта смертность составляет около 35%, которая на 12-15% увеличивается к концу первого года [5,12,41].

### **1.2. Концепция гетерогенности причин инсульта**

Важный вклад в понимании патогенеза острых НМК вносит концепция гетерогенности причин инсульта. Это позволило создать учение о подтипах инсульта, прежде всего инсульта ишемического характера [19].

К основным подтипам ишемического инсульта уточненного генеза при артериальной гипертонии (АГ) и атеросклерозе относятся: атеротромботический - в 34% случаев, кардиогенный эмболический – в 22%, лакунарный – в 20%, гемодинамический – в 15% и гемореологический – в 9% [19,40].

Согласно общепризнанной классификацией патогенетических подтипов ишемического инсульта (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) выделены: атеротромботический, кардиогенный эмболический, лакунарный инсульт, другой инсульт известной этиологии, инсульт неизвестной этиологии [48,133].

### 1.3. Патологические процессы при ишемии мозга

В развитии инфаркта мозга большое значение имеют следующие друг за другом патологические процессы [5,13,15]:

- снижение мозгового кровотока;
- снижение синтеза АТФ,
- дисфункция каналов активного ионного транспорта;
- активация «глутаматного каскада» при высвобождении избыточного глутамата из пресинаптических окончаний ишемизированных нейронов в межклеточное пространство;
- высвобождение кальция из внутриклеточного депо;
- активация ряда ферментов – фосфолипазы, ксантиноксидазы, протеазы калпаина, а также накопление арахидоновой кислоты;
- окислительный стресс и накопление свободнорадикальных соединений и метаболитов кислорода;
- воспаление и генетически запрограммированная гибель нейронов.

Экспрессия генов при гибели нейронов активизирует синтез провоспалительных цитокинов (интерлейкины-1 спектра  $\alpha$  и  $\beta$ , фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ )), молекул межклеточного взаимодействия, циклооксигеназы-2, при котором запускаются процессы воспаления в области ишемии, поддержания окислительного стресса, нарушение микроциркуляции и гематоэнцефалического барьера [5,14].

Критерием тяжести инсульта является определение содержания показателей провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных в остром периоде ишемического инсульта. Так, снижение уровня ФНО- $\alpha$  в цереброспинальной жидкости ассоциируется с тяжелым течением, а повышение его уровня - с благоприятным течением инсультах [38].

Многочисленными исследованиями установлено, что при ишемии воспаление способствует вторичному деструктивному изменению нейронов. Миграция лейкоцитов в область ишемии может начинаться через 30 мин от ее начала. Лейкоциты нарушают прохождение эритроцитов через микроциркуляторное русло. При этом активация фосфолипаз в лейкоцитах способствует выработке веществ, которые вызывают вазоконстрикцию и усиливают агрегацию тромбоцитов. Вещества, вырабатываемые активированными лейкоцитами, могут так же вызвать деструктивные изменения ткани мозга. В процессе ишемии «ядро» инфаркта постепенно увеличивается в объеме [39].

Таким образом, в результате вызванного ишемией нарушения энергетического обмена наступает деполяризация нейронов и высвобождаются нейромедиаторы, что сопровождается повышением уровня внутриклеточного кальция. Это приводит к дополнительному высвобождению возбуждающих аминокислот глутамата и аспартата, под действием которых увеличивается содержание внутриклеточного кальция и активация ряда ферментов. В результате активации перекисного окисления липидов возникает деструкция клеточных мембран, развивается апоптоз нейронов (разобщение их связей с другими нейронами).

Важнейшими патологическими феноменами, которые вызывают деструктивные изменения мозговой ткани являются иммунные реакции и воспалительные процессы, инициированные ишемией [36].

Сложная многокомпонентная организация иммунной системы и многообразие уровней регуляции позволяют рассматривать её как высокоорганизованную систему, со специальными механизмами управления, регуляции как внутрисистемными, так и межсистемными. Роль иммунного ответа при ишемии мозга двойка. С одной стороны, иммунный ответ направлен

на удаление некротизированной ткани, а с другой - отягощает течение ишемического инсульта, увеличивая область инфаркта [29].

#### **1.4. Концепции о взаимодействии нервной и иммунной системы**

Концепции представлений о взаимодействии нервной и иммунной системы [30]:

- Автономность иммунной системы.
- Иммунологическая привилегированность нервной ткани.
- Локальная иммунная система мозга.
- Иммунонейроэндокринная система, как единая система регуляции гомеостаза (регуляторная метасистема).

Роль гематоэнцефалического барьера во взаимодействии нервной и иммунной системы [9]:

- Препятствие для проникновения высокомолекулярных белков и клеток крови в мозг и цереброспинальную жидкость.
- Селективная проницаемость.
- Защита мозга от экзо- и эндотоксинов.
- Поддержание оптимального состава интерстициальной жидкости.

Анатомические структуры центральной нервной системы, участвующие в регуляции иммунологических функций [30]:

- Гипоталамус – центр регуляции.
- Структуры лимбической системы (гиппокамп и амигдала).
- Шишковидная железа – эффекты: стимуляция пролиферации и активности CD4+, синтеза цитокинов, антител и экспрессии HLA-2 класса.
- Структуры, участвующие в нейротрансмиссии.
- Влияния, осуществляющиеся через вегетативную нервную систему (симпатическая и пептидэргическая иннервация лимфоидных органов).

Гипоталамическая регуляция эндокринных органов [30]:

1. Мелкоклеточные нейроны гипоталамуса синтезируют либерины и статины и транспортируют их в нейрогипофиз.
2. В супраоптическом и паравентрикулярном ядрах синтезируются окситоцин и вазопрессин, которые затем транспортируются в аденогипофиз.
3. На мембранах нейросекреторных клеток гипоталамуса выявлены рецепторы к гормонам периферических эндокринных желез.

В настоящее время появилось большое количества работ, существенно дополнивших взгляды об участии иммунновоспалительных процессов в патогенезе ишемического инсульта [16,39,42]:

### **1.5. Роль воспалительных и противовоспалительных цитокинов в патогенезе ишемического инсульта**

Есть ряд исследований, которые посвящены изучению роли воспалительных цитокинов при ишемии мозга. К цитокинам, значение которых в патогенезе ишемического инсульта доказано относятся ФНО- $\alpha$ , интерлейкин-1, интерлейкин-6, интерлейкин - 10, интерлейкины - 8. Однако остается ряд вопросов о направленности действия, взаимодействии их, о возможных механизмах реализации вызываемых ими эффектов [49,112,120,135,142,143,144].

Фактор некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ) – полипептид, который синтезируется астроцитами, макрофагами, тучными клетками, эндотелиальными клетками, Т-лимфоцитами, клетками периферической иммунной системы, под воздействием которого, повышается экспрессия клеточных молекул адгезии и молекул адгезии сосудистой стенки, а также процесс миграции лимфоцитов в участок воспаления, синтеза лейкотриенов, простагландинов, матриксных металлопротеиназ, и активация лимфоцитов с фибробластами [49,72]. ФНО- $\alpha$

обладает провоспалительными свойствами. ФНО - $\alpha$  имеет следующие формы: ФНО - $\alpha$  и ФНО - $\beta$ , TRAIL, FasL, CD40L, Fas (CD95) и другие

Таким образом, ФНО - $\alpha$  играет важную роль в процессе воспаления, протекающем в области «ишемической полутени».

Выявлено повышенное содержание ФНО - $\alpha$  в плазме крови пациентов с ишемическим инсультом, чем у здоровых лиц, а уровень его содержания коррелирует с тяжестью неврологических нарушений в остром периоде ишемического инсульта [59,106].

Уровень медиаторов иммунного воспаления в плазме крови при кардиоэмболическом подтипе ишемического инсульта выше, чем при остальных подтипах ишемического инсульта [59].

ФНО - $\alpha$  индуцирует синтез свободных радикалов и тормозит апоптоз. В экспериментальных и клинических работах показаны нейропротекционные свойства цитокина ФНО - $\alpha$ , который участвует в регенерации аксонов [71].

На сегодняшний день роль ФНО- $\alpha$  при ишемическом инсульте неоднозначна. С одной стороны, увеличение содержания его вызывает экспрессию молекул межклеточного взаимодействия на эндотелии и приводит к скоплению лейкоцитов, адгезии и миграции их из микроциркуляторного русла в мозг. Это послужило теоретическим обоснованием поддержания повышенного уровня ФНО - $\alpha$  необходимого для переживания нейронов в области острой очаговой ишемии мозга. С другой стороны, гиперпродукция ФНО- $\alpha$  способствует деструктивным изменениям в ткани мозга [64,71].

Интерлейкины (ИЛ-1 - ИЛ-18) - это большая группа белков цитокинов (от ИЛ-1 до ИЛ-18), которые синтезируются активированными иммунокомпетентными (Т-клетки, макрофаги, микроглия) и неиммунокомпетентными (нейроны, базофилы, астроциты) клетками, действующих на конкретную группу клеток, экспрессирующих специфичные рецепторы.

Функции ИЛ связаны с активностью эндотелина, пролактина, брадикинина. ИЛ модулируют процесс воспаления, апоптоза, роста и дифференцировки клеток [11,51,119].

Интерлейкин-1 (ИЛ-1) – это медиатор острого и хронического воспаления. Функции ИЛ-1:

- Индуцирует хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов, макрофагов;
- индуцирует пролиферацию клеток эндотелия;
- стимулирует процесс пролиферации и дифференцировки В-клеток;
- стимулирует процесс высвобождения факторов, которые связаны с дифференцировкой и ростом клеток миелоидной и лимфоидной ткани;
- играет важную роль в транскрипции и регуляции гена ИЛ-2 и ИЛ-3 в Т-клетках.
- обеспечивают взаимосвязь нервной, иммунной, и эндокринной систем

Существуют две формы ИЛ-1: ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , с молекулярной массой 17 кДа.

Источниками выработки ИЛ-1 являются эндотелиоциты, фибробласты, фагоцитирующие мононуклеары, НК-клетки, лимфоциты и нейтрофилы.

ИЛ-1 $\alpha$  играет немаловажную роль в патогенезе ишемического инсульта и в образовании инфаркта мозга, вызывая локальное воспаление [17].

Синтез ИЛ-1 $\alpha$  при ишемии мозга является сигналом для стимуляции астроцитов, образования других провоспалительных цитокинов, синтеза потенциально нейротоксичных веществ, таких как оксида азота и метаболитов арахидоновой кислоты. Все это способствует нарастанию отека мозга.

Уровень ИЛ-1 как в сыворотке крови, так и в цереброспинальной жидкости, зависит от подтипа инсульта и будет коррелировать со степенью тяжести инсульта. При кардиогенном эмболическом инсульте уровень ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  выше, чем при атеротромботическом и лакунарном инсульте [101,119].

ИЛ-2 первоначально был назван Т-клеточным ростовым фактором.

ИЛ-2 -это мономерный гликопротеин, молекулярный вес которого составляет 14,6 кД, который секретируется Т(CD4+)-хелперами [11].

Функций ИЛ-2:

- индуцирование процесса пролиферации В-лимфоцитов;
- активирование Т-лимфоцитов;
- стимуляция естественных киллеров и генерирует LAK (лимфокин-активированные киллеры);
- Стимулирует процесс синтеза и секрецию таких лимфокинов как ИЛ-4, ИЛ-6, колоний-стимулирующих факторов (CSFs), гамма-интерферона и факторов некроза опухолей (TNFs)

Мишенью действия ИЛ-2 являются клетки, имеющие на поверхности мембраны специфический высокоаффинный рецептор(ИЛ-2R). ИЛ-2R отсутствует на поверхности мембраны покоящихся Т-лимфоцитов, но быстро появляется на активированных Т-клетках, активированных В-лимфоцитах и макрофагах.

Взаимодействие ИЛ-2 с ИЛ-2R приводит к пролиферации Т-хелперов, которые в дальнейшем воздействуют на дифференцировку и пролиферацию цитотоксических Т-клеток, природных киллеров, лимфокин-активированных киллеров, В-клеток и макрофагов, что обуславливает дальнейшее развитие иммунного ответа [28,30].

**Интерлейкин-6 (ИЛ-6)** – цитокин, участвующий в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции, с молекулярной массой 21 кДа, который продуцируется активированными макрофагами и Т-клетками, фибробластами эндотелиоцитами.

ИЛ-6 обладает как воспалительным так и противовоспалительным действием. Функции ИЛ-6 включают [28,30]:

- увеличивает проницаемость эндотелия;
- стимулирует образование гепатоцитами белков острой фазы воспаления;

- обладает эффектом отрицательной обратной связи по отношению к образованию интерлейкина-1 и TNF- $\alpha$ ;
- повышает экспрессию фактора роста нервов;
- обеспечивает взаимодействие иммунной, нервной и эндокринной систем.

Повышение уровня ИЛ-6 в остром периоде ИИ коррелирует с большим объемом инфаркта мозга и неблагоприятным прогнозом заболевания, а также ассоциируется с риском развития повторных НМК и летальностью больных с кардиогенным эмболическим инсультом, обусловленным фибрилляцией предсердий, не получающих антикоагулянтную терапию [59,63,132,135,136].

В работах Oto J. и соавт. (2008) повышенный уровень ИЛ-6 в плазме крови при геморрагическом инсульте ассоциировался с неблагоприятным прогнозом. Повышение ИЛ-6 коррелирует с увеличением объема гематомы в первые сутки заболевания [110].

**Интерлейкин-8 (ИЛ-8)** - гликопротеин, известный как хемотаксический фактор Т-клеток и фактор, активирующий нейтрофилы (NAF), молекулярная масса которого составляет 8,8 кДа. Относится к группе хемокинов, основное свойство которых обеспечивать хемотаксис в область воспаления нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток. Синтезируется ИЛ-8 макрофагами, моноцитами, фибробластами [68].

ИЛ – 8 вызывает экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливая прилипание нейтрофилов к эндотелиоцитам и субэндотелиальным матричным белкам, что указывает о его роли в развитии воспалительного ответа и отека мозга [28,30].

**Интерлейкин-10 (ИЛ-10)** относится к числу противовоспалительных цитокинов. Экспрессируются моноцитами, макрофагами, активированными Т-хелперами.

ИЛ-10 является мощным ингибитором иммунных и воспалительных реакций:

- стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, подавляет синтез ИЛ-2 и g-интерферона,
- угнетает процесс экспрессии молекул адгезии (ICAM-1), участвующих в развитии локального воспаления;
- снижает выработку поверхностных рецепторов для ФНО- $\alpha$  и стимулирует высвобождение «растворимых» рецепторов для ФНО- $\alpha$  [28,30,69].

Ряд исследований показали взаимосвязь между низким уровнем ИЛ-10 в плазме крови и риском развития повторного инсульта и неблагоприятного течения заболевания. Напротив, предиктором благоприятного течения и прогноза заболевания является увеличение уровня ИЛ-10 в первые сутки инсульта [59].

У пациентов с лакунарным инсультом, согласно исследованиям N. Vila и соавт., выявлена связь между постепенным снижением уровня ИЛ-10 в плазме крови и нарастанием степени неврологических нарушений в динамике острого периода инсульта [134].

Naayak и соавт. выявили снижение концентрации ИЛ-10 в плазме крови через 24 ч с от начала развития инсульта и повышение его через 72 ч [107].

В исследованиях В.К. Vanja и соавт., Perini и соавт. у больных с ишемическим инсультом выявлен низкий уровень ИЛ-10 в плазме крови, по сравнению с группой контроля. Согласно проведенным исследованиям повышение концентрации ИЛ-10 в плазме крови коррелирует с улучшением прогноза заболевания [113].

В исследованиях Neely и соавт. не было выявлено у больных с ишемическим инсультом статистически значимых изменений уровня ИЛ-10 в плазме крови по сравнению с контрольной группой. Однако, установлена статистически значимая корреляция между уровнем «растворимого» рецептора к

ФНО- $\alpha$  1-ой недели инсульта и величиной инфаркта на 5, 7 сут заболевания (по данным КТ) [86].

Исследования Mendall M.A. и соавт. описывают воспалительные изменения при субарахноидальных кровоизлияниях - периваскулярную лейкоцитарную инфильтрацию в субарахноидальном пространстве, происходящую в ответ на развитие вторичного спазма мозговых артерий.

В цереброспинальной жидкости больных было выявлено повышение концентрации воспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  [18].

По данным K. Fassbender et al., высвобождение воспалительных цитокинов в субарахноидальное пространство в остром периоде геморрагического инсульта обусловлено нарушением кровотока в мозговых артериях, происходящего вследствие вазоспазма, и связано с ухудшением прогноза [77].

### **1.6. Маркеры состояния ткани мозга**

Матриксные металлопротеиназы (ММП) - семейство внеклеточных эндопептидаз, способных разрушать белки внеклеточного матрикса.

К настоящему времени описано около 30 матриксных металлопротеиназ.

ММП в физиологических условиях секретируются из клеток в очень незначительных количествах. Одной из характерных особенностей синтеза этих ферментов является синтез и секреция ММП под контролем многих факторов [11].

ММП участвуют в процессах ремоделирования внеклеточного матрикса, при этом разрушая его компоненты, коллаген, эластин, фибриноектин, глюкозаминогликаны [85, 139].

Многочисленные исследования свидетельствуют о роли ММП в разрушении гематоэнцефалического барьера при локальной церебральной ишемии и последующей реперфузии.

Снижение ММП-2 и ММП-9 после окклюзии СМА играет важную роль в защите ткани мозга от ишемии. Содержание матриксных металлопротеиназ увеличивается в области ишемии, по известным морфологическим данным, в очаге ишемии мозга наблюдается увеличение концентрации ММП-9.

Исследования А.М. Romanic с соавт. и М. Asahi с соавт. выявили, что ингибирование экспрессии ММП-9 приводит к уменьшению величины очага ишемии в мозге [50].

При лакунарном инсульте экспрессия ММП-2 увеличивается и связана с благоприятным прогнозом. При обширных инфарктах мозга повышение уровня ММП-9 будет коррелировать с более тяжелым прогнозом и с возникновением в области инфаркта геморрагического компонента, в том числе и при тромболизисе [62,103,120,121].

В исследованиях Р. G. Kelli и соавт. выявлена взаимосвязь тяжести инсульта с экспрессией ММП-9. Содержание ММП-9 при гематомах мозга и субарахноидальных кровоизлияниях коррелирует с тяжестью отека мозга [95].

Белок S100 - белок астроцитарной глии, связывающий кальций с молекулярной массой 21 000 Да, являющийся одним из ранних маркеров гипоксии ткани мозга. Раннее повышение его уровня в первые сутки ишемического инсульта коррелирует с тяжестью неврологической симптоматики, объемом инфаркта мозга и функциональными нарушениями к концу 1 мес [60].

При обширных и больших инфарктах мозга установлено ранее повышение и дальнейшее (в течение 6-8 ч) нарастание содержания S100 в сыворотке крови [60,80].

В исследованиях отмечается неблагоприятное значение раннего повышения S100 в сыворотке крови (1 сут ишемического инсульта) для прогноза функциональных нарушений. Снижение уровня S100 в сыворотке крови в течение 48 ч от момента первых симптомов инсульта может

рассматриваться как маркер восстановления кровотока в окклюзированной средней мозговой артерии, что является благоприятным прогностическим признаком для восстановления нарушенных неврологических функций [80].

Во многих исследованиях выявлена корреляцию между уровнем S100 на 3 - 4 сут заболевания и объемом инфаркта мозга на 7 сут у больных с атеротромботическим и кардиогенным инсультом. В этих работах указывается о прогностической значимости уровня S 100 для отдаленного периода инсульта (спустя 6 мес и более) [87,92].

В исследованиях Гусева Е.И. и Скворцовой В.И. было показано повышение концентрации белка S100 на 25 - 50% в цереброспинальной жидкости больных с инсультом средней тяжести в первые сутки заболевания. При этом повышение концентрации белка S100 не сопровождается изменением титров аутоантител к этому антигену, а инициация антителообразования занимает 5-7 суток, что является объяснением нормального титра аутоантител к S100 на 1 - 3 сут ишемического инсульта.

Таким образом, большое количество исследований свидетельствует о взаимосвязи повышения белка S 100 с объемом инфаркта мозга и восстановлением неврологических функций.

Установлена диагностическая и прогностическая значимость содержания аутоантител к S100b в сыворотке крови: в первые часы инсульта отмечается повышение титра первичных антигензависимых аутоантител к S100 в сыворотке крови при отсутствии изменений вторичных антителозависимых аутоантител. В этих работах выявлены различия титра антител к S100 в зависимости от подтипа ишемического инсульта. Так, при кардиогенном эмболическом и гемодинамическом инсульте уровень его повышен, чем при лакунарном инсульте [114].

При субарахноидальных кровоизлияниях через 3 суток от начала развития заболевания определение его концентрации в плазме крови может применяться для прогноза заболевания и диагностики вазоспазма [80,92]

С-реактивный белок (СРБ) - белок острой фазы воспаления, молекулярная масса которого составляет 118 кДа, образующийся в гепатоцитах печени, при воздействии ИЛ-6, ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , интерферона- $\gamma$ , трансформирующего фактора роста- $\beta$ . В условиях воспаления синтез С-реактивного белка постепенно увеличивается.

С-реактивный белок является специфичным и чувствительным показателем воспаления и некроза, который имеет самостоятельное значение при атеросклерозе и атеротромбозе .

Риск развития сердечно-сосудистых осложнений (острый инфаркт миокарда и инсульт) при уровне С-реактивного белка менее 1 мг/л низкий, от 1 до 3 мг/л – средний, 3 мг/л и более - высокий.

Повышение уровня СРБ в плазме крови до 3 мг/л и более может использоваться для прогнозирования тяжести инсульта и отека мозга, степени функциональных нарушений, риска развития повторных НМК. Повышение уровня СРБ в цереброспинальной жидкости к 3-м суткам от начала развития неврологических нарушений показывает степень воспалительных изменений в области инфаркта, что ассоциируется с неблагоприятным прогнозом [13,14].

Дисфункция эндотелия и активация тромбоцитов, которые вызывают воспаление, отражают связь между повышением С-реактивного белка и летальностью при инсульте.

### **1.7. Иммунный статус**

Иммунный статус (клеточный и гуморальный иммунитет) - показатель системы иммунитета, в котором исследуются компоненты иммунитета, представленные белками, циркулирующими в сыворотке крови и клеточным компонентом: общее количество лейкоцитов, лимфоцитов, идентифицируемых

по различным антигенам - CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/56, CD3/16/56, CD3/HLA-DR; иммуноглобулины А, М, G; циркулирующие иммунные комплексы; С-реактивный белок – комплексный показатель иммунного состояния [31].

Возникновение гуморального и клеточного иммунитета сопровождается формированием так называемой иммунологической памяти.

Клетки иммунной системы можно разделить в функциональном отношении на две различные категории: регуляторные и их предшественники. Длительность их действия продолжается от нескольких часов до нескольких суток.

Функцию регуляторных клеток осуществляют Т-лимфоциты и макрофаги, функцию эффекторных – В-лимфоциты, плазматические клетки, гранулоциты, клетки киллеры, НК клетки [31].

Регуляторная функция иммунных клеток направлена на обратимую модификацию функциональной активности антигенов-мишеней, а эффекторная функция сконцентрирована на поддержание молекулярной аутентичности тканей организма, а также обеспечении «первой линии» защиты от инфекций [116,117].

В патологических условиях, кроме острых инфекций и аутоиммунных состояний, длительное поступление аутоантигенов в кровь влияет на уровень сывороточного содержания различных и специфичных естественных аутоантител, что в свою очередь приводит к формированию иммунного ответа определенной антигенной специфичности. Формирование иммунного ответа длится 6-7 дней, включая пролиферацию определенных клонов Т- и В-лимфоцитов и синтез высокоспецифичных естественных аутоантител [29,30]

**Основные субпопуляции лимфоцитов.** На поверхности лимфоцитов располагаются структурные молекулы, которые представляют собой маркеры клеток с конкретными функциональными свойствами.

В систематизированную номенклатуру входит более 160 молекул, обозначаемых как CD (кластер дифференцировки). Субпопуляции лимфоцитов и их фенотип, обозначаются: зрелые Т—лимфоциты — CD3, Т-хелперы — CD4+, ЦТЛ - CD8+, клетки с признаками апоптоза - CD95 и т.д [34]

В-клетки - функциональный тип лимфоцитов, ответственные за биосинтез антител. Одни В-лимфоциты при контакте с антигеном или стимуляции со стороны Т-клеток модифицируются в плазматические клетки, которые способны к продукции антител. Другие В-лимфоциты трансформируются в В-клетки памяти. Помимо выработки антител, В-клетки могут выступать в роли антигенпрезентирующих клеток и продуцируют цитокины.

Для связывания антигенов необходимы специфические антигенные рецепторы. Антигенными рецепторами являются иммуноглобулины, а именно IgM. В-клеточный рецептор, кроме иммуноглобулинов, содержит еще и дополнительные молекулы, которые важны для передачи сигнала и не связанные с распознаванием. К ним относятся CD19, CD 21, которые образуют вместе с CD81 корцепторный комплекс [29].

CD19 - образуется на всех клетках В-ряда и используется для количественной оценки популяции В-лимфоцитов.

CD 21- располагается на зрелых В-клетках и фолликулярных дендритных клетках. Вероятнее всего эта молекула усиливает передачу сигнала на В-клетки или же способствует рецептор-опосредованному поглощению антигена.

С рецепторным комплексом В-клеток связаны также CD20 и CD22.

CD20- участвует в активации В-клеток и представлен на В-клетках всех стадий развития.

CD22-рецептор иммуноглобулиновой природы, который принимает участие негативной регуляции В-лимфоцитов и адгезии на Т-клетках и моноцитах.

Т-лимфоциты усиливают действие НК-клеток, моноцитов, распознают и ликвидируют клетки, несущие чужеродные антигены, а также участвуют в переключении изотипов Ig (сначала синтезируют IgM, потом – IgG, IgE, IgA).

Таким образом, Т-лимфоциты участвуют в регуляции иммунного ответа в качестве супрессоров, которые подавляют иммунный ответ, а также в качестве хелперов, кооперируя с В-лимфоцитами при синтезе антител или стимулируя пролиферацию Т-клеток.

Таким образом, Т-лимфоциты участвуют в регуляции иммунного ответа в качестве супрессоров, которые подавляют иммунный ответ, а также в качестве хелперов, кооперируя с В-лимфоцитами при синтезе антител или стимулируя пролиферацию Т-клеток.

Во всех Т-лимфоцитах присутствует комплекс CD3 (cluster of differentiation), который связан с Т-клеточными рецепторами (TCR).

CD3 обеспечивает процесс передачи сигнала о взаимодействии TCR с антигеном. На его поверхности имеются молекулы CD4 (Т-хелпер) или CD8 (Т-киллер) [30,31].

Т-хелперы (CD3+/CD4+) и цитотоксические Т-клетки CD3+/CD8+). Динамика изменений их абсолютного и относительного количества может представлять ценность для контроля эффективности терапии и прогноза заболевания [34]

CD3 – молекулярный комплекс, состоящий из 3-х цепей, играющий решающую роль при проявлении Т-клетками функциональной активности, образует с другими корецепторами комплекс, который распознает чужеродный антиген совместно с молекулами главного комплекса гистосовместимости 1 или 2 класса.

CD4, CD8- являются корецепторными структурами Т-клеточного рецептора и представлены на Т клетках-хелперах и цитотоксических Т клетках, участвующие в распознавании антигена

При оценке Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток нужно иметь в виду, что численность их популяций зависит от пола, возраста, этнической принадлежности, от стресса как физического, так и физиологического, лекарственных препаратов.

Так, например, отмечено, что процент CD4 у женщин выше, чем у мужчин, также как и отношение CD4+/CD8+ (на 0,17 единиц.). С возрастом отмечается повышение этого соотношения, преимущественно за счет CD4 на 0,9 единиц каждые 10 лет.

У 10% людей старше 70 лет это соотношение выше общепринятой нормы.

Выявлено влияние суточных ритмов на CD4+/CD8+. Самое низкое значение CD4+/CD8+ выявлено 12:30, далее отмечается повышение его до максимального уровня в 20:30.

Психологический стресс, который вызывает повышение ЧСС, АД не отражается на абсолютном количестве субклассов Т-лимфоцитов. Однако физический стресс, который вызывает повышение ЧСС, АД, адреналина и норадреналина, приводит к подъему количества CD8 и понижению иммунорегуляторного индекса (Тхелперы / Тсупрессоры) [33].

Курение приводит к повышению общего количества лейкоцитов и CD4+ у женщин и мужчин, употребление алкоголя также повышает количество лимфоцитов, но не влияет на соотношение субпопуляций. Такие лекарственные препараты как цефалоспорины, цитостатики, глюкокортикоиды также влияют на субпопуляционный состав лимфоцитов [28].

НК-клетки (CD3-CD16+/CD56) - это лимфоциты, обладающие свойствами натуральных киллеров. На сегодняшний день их рассматривают как отдельный класс лимфоцитов, выполняющих цитотоксические цитокин-продуцирующие функции. Они имеют на своей поверхности маркеры CD16 и CD56, около 80% НК несут CD8, функция которых не вполне ясна.

Тем не менее известно, что при связывании их с растворимой формой МНС-1, имеющейся в сыворотке человека, запускается процесс апоптоза НК-клеток [34,126].

НК-клетки отличаются от Т-клеток отсутствием Т-клеточного рецептора, имеют фенотип CD3-CD16+/CD56. Активированные НК-клетки имеют на своей поверхности CD25, HLA-DR, CD69.

CD16 – участвует в цитотоксичности, осуществляемой НК. CD56 – адгезионная молекула.

НКТ – подкласс Т-клеток, которому присущи фенотипические особенности как Т-клеток, так и НК-клеток.

Способность НКТ-клеток определять «свое» и «чужое» осуществляется поверхностными рецепторами. Это сложная система рецепторов к стресс-индуцированным клеточным лигандам, которые распознают молекулы собственных клеток организма. К этим рецепторам относятся рецепторы NCRs и NKG2D.

Цитокиновые рецепторы играют ключевую роль в активации НК. В активации НК принимают участие цитокины ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-2. Fc-рецепторы, активирующие клетку при связывании с фрагментами антител.

Активирующие и ингибирующие рецепторы можно разделить на 2 больших семейства:

1. killer lectin-like receptors (KLRs)— гомологи рецепторов-лектинов С типа.
2. killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) - рецепторы, содержащие иммуноглобулин-подобные домены.

Иммуноглобулины (Ig) являются растворимыми белками сыворотки крови и выполняют функцию специфических антител. Различают пять основных классов иммуноглобулинов: IgA, M, G, D и E, различающиеся по биологическим и физическим свойствам.

Концентрация IgA в сыворотке крови достигает в среднем 2 г/л, молекулярная масса – 170000. IgA составляют 10-15% всех иммуноглобулинов сыворотки. Концентрация IgM в сыворотке в среднем составляет 1,1г/д у женщин, и 0,9 г/л. IgG-это антитела, содержащиеся в сыворотке крови в самой высокой концентрации -12г/л.

Исследованиями показано, что у больных с ишемическим инсультом число CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> - клеток, а так же уровень IgG и IgM снижаются, а уровни CD20<sup>+</sup>- и CD95<sup>+</sup>- лимфоцитов, ЦИК и IgA повышаются, на фоне повышения относительного числа В-лимфоцитов.

При геморрагическом инсульте отмечается низкое содержание в периферической крови иммунокомпетентных клеток - CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>- и В-лимфоцитов, то же время количество CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> - клеток и уровень IgA повышаются [59].

При ишемическом инсульте уровень NK- клеток (CD16<sup>+</sup>) и, циркулирующих иммунных комплексов снижается на фоне повышения относительного числа В-лимфоцитов [59].

В литературе недостаточно работ, посвящённых изучению показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета при ишемическом и геморрагическом инсульте.

При ишемическом инсульте отмечена тенденция к снижению показателей Т - клеточного звена иммунитета в виде снижения количества цитотоксических Т-лимфоцитов. Уровень IgM выше при геморрагическом инсульте, чем при инфаркте мозга.

Большинство иммунологических показатели коррелирует с тяжестью течения инсульта. Так при тяжёлом течении заболевания наблюдается значительно выраженное снижение показателей клеточного звена (Т-лимфоциты, Т-хелперы) и активация гуморального звена (IgA, ЦИК) иммунитета.

У больных с тяжелой инвалидизацией на 3-6-е сут инсульта в сыворотке крови отмечается уменьшение числа Т-лимфоцитов, а также более выраженное уменьшение числа Т-хелперов и снижение уровня IgM по сравнению с больными с восстановлением нарушенных функций. При летальном исходе наблюдается максимальное увеличение уровня IgA, а также снижение количества Т-лимфоцитов, абсолютного и относительного числа Т-хелперов, уровня ЦИК

При тяжёлой степени инвалидизации больных, также как и для тяжёлого течения инсульта, характерны низкие показатели Т- лимфоцитов, Т-хелперов, IgM и высокий уровень IgA.

На характер изменений иммунного статуса влияют и сопутствующие соматические заболевания. При ишемической болезни сердца уровень циркулирующих иммунных комплексов повышается. При сочетании атеросклероза и артериальной гипертензии отмечается повышение уровня Ig G. У больных с сахарным диабетом типа 2 уменьшается количество Т-лимфоцитов, снижается уровень IgM и циркулирующих иммунных комплексов.

При АГ выявлены изменения показателей клеточного звена иммунитета, представленные дисбалансом субпопуляции CD 4+ и CD8+, изменением регуляторного индекса, в сторону повышения его, а также снижение IgM, уменьшение NK-клеток.

Таким образом, выявлено изменение количественных параметров иммунного статуса: уменьшение числа лимфоцитов, зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток. Параллельно происходят изменения и в гуморальном звене иммунитета, проявляющиеся в виде увеличения числа В-лимфоцитов и повышения уровней IgA и циркулирующих иммунных комплексов. Выявлено влияние сопутствующих заболеваний, особенно сахарного диабета, на показатели иммунного статуса пациентов с ишемическим инсультом.

## **1.8. Молекулы межклеточного взаимодействия**

Большой вклад в понимание патогенеза ОНМК внесли и исследования свойств адгезивных молекул.

По результатам исследований, полученных к настоящему времени идентифицированы популяции специфических молекул, получивших название адгезивные (АМ), которые опосредуют задержку циркулирующих лимфоцитов в периферической лимфоидной ткани, и их миграцию в органы-мишени [130].

Молекулы межклеточного взаимодействия – плазматические мембранные белки, которые обеспечивают механическое взаимодействие клеток друг с другом [109]

**Выделяют следующие структурные семейства [130]:**

- Интегрины - молекулы, которые функционируют как клеточно-субстратные и межклеточные адгезивные рецепторы;
- Адгезивные рецепторы суперсемейства иммуноглобулинов, принимающие участие в межклеточной адгезии и в иммунном ответе;
- Селектины - адгезивные молекулы, которые обеспечивает адгезию лейкоцитов к клеткам эндотелия;
- Кадгерины - кальцийзависимые межклеточные адгезивные белки.

**Функции:**

- обеспечение неспецифической адгезии между различными клетками и стимуляции их.
- участвуют в процессе воспаления, миграции лейкоцитов через сосудистую стенку, в процессе активации Т - и В-лимфоцитов.
- повышение адгезивности имеет огромное значение в дисфункции эндотелия при воспалении, атеросклерозе.

Адгезия лейкоцитов претерпевает две стадии: стадия роллинга (прокатывания лейкоцитов вдоль эндотелия) и стадия плотной адгезии (остановки лейкоцитов).

Эти стадии объединены различными адгезивными молекулами, последовательность и время экспрессии которых различна [79].

### **Суперсемейство иммуноглобулинов**

К суперсемейству иммуноглобулинов принадлежат молекулы межклеточной адгезии первого (ICAM-1), второго (ICAM-2) и третьего типа (ICAM-3), молекулы адгезии сосудистой стенки 1 типа (VCAM-1).

Процесс регуляции экспрессии ICAM-1, ICAM -2, ICAM -3 и VCAM-1 играет немаловажную роль в адгезии лимфоцитов. Высокий уровень экспрессии ICAM-2 постоянно выявляется на «покоящихся» клетках эндотелия. В свою очередь, ICAM-1 с трудом выявляется на эндотелии, а VCAM-1 отсутствует. При активации эндотелия экспрессия вышеуказанных молекул усиливается.

ICAM-1(CD54) - одноцепочечный гликопротеин, молекулярная масса которого 55 kDa. Образуется на различных типах эндотелиальных, эпителиальных клеток, фибробластах, на тканевых макрофагах, дендритных клетках и др. Экспрессия ICAM-1 усиливается в течение 6-8 ч после стимуляции клеток и сохраняется как минимум 48 ч. ICAM-1 и его рецептор LFA-1 являются дополнительными факторами активации Т-лимфоцитов [102,124].

ICAM-2 представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 60 kDa, расположенный на поверхности клеточной мембраны. В состав молекулы входят два Ig-подобных внеклеточных домена. ICAM-2 широко представлен на гемопоэтических клетках. На покоящихся лимфоцитах экспрессия ICAM-2 в несколько раз выше, чем ICAM-1, тогда как уровень экспрессии этих молекул на моноцитах одинаков. ICAM-2 не выявляется на нейтрофилах и других типах

клеток (или обнаруживается в очень незначительных количествах). Экспрессия ICAM-2 не подвергается влиянию воспалительных цитокинов. Рецептором ICAM-2 является интегрин LFA-1. ICAM-2 присутствует на «покоящихся» клетках, и тем самым вовлечен в процесс рециркуляции LFA-1- лимфоцитов. Одной из важных функций ICAM-2 является ICAM-1 независимый лизис различных клеток-мишеней [124].

ICAM-3 является высокогликозилированным протеином, молекулярная масса которого составляет 124 kDa. Его функциональную активность определяет принадлежность к лигандам LFA-1, также как и ICAM-1 и ICAM -2. В отличие от ICAM-1 и ICAM -2, ICAM-3 отсутствует на поверхности эндотелия. Он экспрессируется на «покоящихся» моноцитах, нейтрофилах, лимфоцитах. На сегодняшний день считается, что первичная адгезия «покоящихся» Т-лимфоцитов совершается именно при участии ICAM-3 [102,124].

VCAM-1 относится к суперсемейству иммуноглобулинов, который вовлекается процесс лейкоцитарно-эндотелиального взаимодействия

VCAM-1 является лигандом интегрина VLA-4, найденного на лимфоцитах, моноцитах и эозинофилах. VCAM-1/VLA-4 взаимодействие опосредует прочное прилипание лейкоцитов к эндотелию. При смене острой фазы воспаления на хроническую VCAM-1 обеспечивает накопление мононуклеарных клеток, обладая относительно селективной адгезией. [30,34]

PECAM-1, или CD31- трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой около 130 kDa PECAM-1 в основном экспрессируется клетками сосудистого эндотелия и считается важным иммуногистохимическим маркером ангиогенеза. PECAM-1 также обнаруживается на моноцитах, тромбоцитах, нейтрофилах и Т-клетках. Недавние исследования подтверждают участие PECAM-1 в процессе воспаления и взаимодействии лейкоцитов с клетками эндотелия. Выделяют 3 стадии миграции лейкоцитов в область воспаления. В одной из которых происходит проникновение лейкоцитов через межклеточные пространства эндотелия сосудов осуществляется под воздействием PECAM-1.

Молекулы PECAM-1 образуют как гомофильные связи (взаимодействуют между собой), так гетерофильные связи (взаимодействуют с другими молекулами) [34].

### **Семейство селектинов**

Представителями семейства адгезивных белков являются селектины. Их специфичные черты:

1. вариабельность числа повторов комплемент-регуляторных белков от 2 до 9;
2. домен эпидермального фактора роста (EGF);
3. N-концевой лектиновый домен.

Семейство селектинов включает: L-селектин, P-селектин и E-селектин. P- и E-селектины обеспечивают роллинг, осуществляя частичную задержку и остановку лейкоцитов на эндотелиальной поверхности.

Причем в начальной стадии происходит быстрый роллинг лейкоцитов, обеспечиваемый P-селектином. Скорость этого процесса начинает замедляться при экспрессии E-селектина

Растворимый L-селектин, (sCD62L или sLECAM-L), адгезивный белок, который образуется при распаде белка с молекулярной массой 75-80 kDa, являющегося мембранным предшественником L-селектина, L-селектин экспрессируется на лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах и других миелоидных клетках и имеет прямое отношение к их миграции.

Первым шагом адгезии лейкоцитов к эндотелию по мнению многих авторов является феномен «катящихся» нейтрофилов вдоль сосудистой стенки, опосредуемый в свою очередь L-селектином.

Растворимый P-селектин - гликопротеид, с молекулярной массой 75-80 кДа. Его экспрессия происходит в тельцах Вейбеля-Паладе эндотелиальных клеток. Он принимает участие в адгезии лейкоцитов к эндотелию в начальной

фазе воспаления; вносит свой вклад в развитие нарушений микроциркуляции при воспалительных заболеваниях и сахарном диабете [70,99,123,130,131].

Растворимый E-селектин (sE-selectin, ELAM-1 endothelial leucocyte adhesion molecule) - гликопротеид с молекулярной массой 95-115 kDa. Он адгезивной молекулой, которая экспрессируется в активизированном эндотелии. Полиморфизм E-селектина связан с восприимчивостью клеток мозга к ишемии [84,90,99,108]

### **Заключение**

Учитывая обобщенные данные об изменениях Т- и В- систем иммунитета, можно с уверенностью отметить неоспоримую значимость иммунной активации при острых НМК. По мнению многих авторов эти изменений следует рассматривать как факторы, запускающие аутоиммунный каскад, поддерживающие воспалительный процесс в области ишемии мозга. Т-лимфоциты как значимый компонент клеточного и гуморального звеньев иммунитета работают с помощью антигенпрезентирующих клеток, таких как моноциты, макрофаги, а также помогают осуществлять эффекторные функции другим иммунокомпетентным клеткам, выполнение которых возможно только с помощью рецепторного распознавания.

Ведущую роль в развитии и регуляции характерного для ишемии мозга аутоиммунного воспалительного процесса отводят цитокинам - низкомолекулярным белкам, продуцируемым лимфоцитами и макрофагами в ответ на активацию антигеном. взаимодействие между клетками при развитии иммунного ответа обеспечивается участием цитокинов. Основные клетки, продуцирующие цитокины иммунной системы, представлены Т-хелперами и макрофагами. Т-хелперы 1 типа продуцируют ИЛ-2, тогда как Т-хелперы 2 типа - ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13. Цитокины второй группы участвуют в подавлении активности макрофагов, активации В-клеток, продукции антител, что является важным в развитии гуморального иммунного ответа. Такие

представители цитокинов, как ИЛ-3 и ФНО, синтезируются Т-хелперами обоих типов. Т-хелперы 1 типа участвуют в формировании клеточного иммунитета, а Т-хелперы 2 типа - гуморального. Цитокины, секретируемые одним типом Т-клеток, существенным образом влияют на другую субпопуляцию лимфоцитов, подавляя их дифференциацию и эффекторные функции. В настоящее время выделена субпопуляция регуляторных Т-лимфоцитов, которые регулируют активность Т-хелперов 1 типа и 2 типа

Изучение свойств молекул межклеточного взаимодействия, механизмов развития аутоиммунного процесса и роли цитокинов при ишемии мозга вносит свой вклад в понимание патогенеза острых НМК.

Роль молекул межклеточной адгезии сводится к обеспечению неспецифической адгезии между различными клетками, участию в воспалении, миграции лейкоцитов сквозь сосудистую стенку, активации Т - и В-лимфоцитов. Все адгезивные молекулы играют значительную роль в проникновении клеток иммунной системы в ткань мозга, а также регулируют взаимодействие эффекторных клеток иммунной системы с клетками-мишенями. На сегодняшний день разработана панель моноклональных антител для определения адгезивных молекул: антитела против CD54 (ICAM-1), CD11a (LFA1), CD11b (MAC-1), CD49 (VLA-4), CD44 и другие. Их использование позволяет определять наличие молекул межклеточной адгезии в крови и цереброспинальной жидкости пациентов, а также в очаге ишемии.

Завершая обзор литературы о роли иммунной системы в патогенезе острых нарушений мозгового кровообращения, важно отметить, что многие вопросы остаются до сих пор недостаточно изученными. На сегодняшний день существует мало клинических исследований с комплексной оценкой факторов клеточного и гуморального иммунитета и динамики показателей иммунного статуса у больных в остром периоде ишемического инсульта. Опубликовано мало данных, подтверждающих ключевую роль молекул адгезии в развитии иммунного ответа и процессов, связанных с нарушением функции эндотелия,

при ишемии мозга. Недостаточно разработаны подходы к определению уровня экспрессии молекул адгезии как информативного показателя активации иммунологического процесса при ишемии мозга.

## ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

Научно-исследовательская работа выполнена на кафедре нервных болезней стоматологического факультета ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова (зав. кафедрой - академик РАН, профессор З.А. Суслина) и ФГБУ НЦН РАМН (директор – академик РАН, профессор З.А. Суслина).

Исследование иммунологических и биохимических показателей крови проводилось в лаборатории гемореологии и нейроиммунологии с клинической лабораторной диагностикой ФГБУ НЦН РАМН.

Протокол обследования больных ишемическим инсультом одобрен локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Обследовано 64 больных (36 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 42 до 82 лет (средний возраст  $62,4 \pm 12,4$  лет) с первым в анамнезе инсультом.

Диагноз инфаркта мозга был поставлен на основании анамнестических сведений, результатов клиничко-неврологического обследования и данных МРТ в режимах диффузионно- взвешенных изображений, T1, T2, T2-FLAIR, T2\*. МРТ проводилась на томографах Magnetom Symphony и Magnetom Avanto, Siemens AG (Германия) с величиной магнитной индукции 1,5 Т. Оценку объема инфаркта мозга полушарной локализации проводили на основании критериев, предложенных Калашниковой Л.А (1981 г.) и Верещагиным Н.В. и соавт. (1986 г) [17]. К обширным инфарктам отнесены инфаркты, занимающие весь бассейн внутренней сонной артерии. К большим – инфаркты, распространяющиеся на весь бассейн мозговых артерий. К средним инфарктам отнесены инфаркты, локализующиеся в пределах бассейна корковых или глубоких ветвей мозговой артерии. К малым глубинным (лакунарным) инфарктам отнесены инфаркты такой же величины, локализовавшиеся в глубоких отделах мозга.

Состояние ветвей дуги аорты оценивали по данным дуплексного сканирования с цветовым доплеровским картированием на приборах Logiq 9, фирмы GE (США), iE 33 и iU 22 фирмы Philips (Нидерланды) с помощью

линейных датчиков с частотой излучения 5,5-12 МГц и конвексных датчиков – 3,5 МГц. Расчет степени стенозирования артерии проводился по формуле (% стеноза =  $X - Y / Y \times 100\%$ , где X – диаметр видимого контрастного заполнения сосуда (при латеральной проекции) в участке максимального стенозирования, Y – диаметр дистального интактного отрезка артерии). По данным дуплексного сканирования с цветовым доплеровским картированием получали информацию о степени атеростеноза и структуре атеросклеротической бляшки.

Также всем больным проводилось исследование сердца, включающее ЭКГ и трансторакальную ЭХО-КГ. Трансторакальная ЭХО-КГ проводилась на приборах iE 33 и iU 22 фирмы Philips (Нидерланды) секреторным датчиком S5-1 с частотой излучения 5 МГц.

Патогенетический подтип инсульта устанавливался в соответствии с классификацией TOAST (Trial of Org 10172 in acute stroke treatment, 1993) и классификацией OCSF (Oxfordshire Community Stroke Project) [105].

Согласно критериям TOAST в исследование были включены 35 больных с атеротромботическим инсультом, 18 больных с кардиогенным инсультом, обусловленным тромбоэмболией из сердца, 11 больных с лакунарным инсультом.

#### **Критерии включения больных в исследование:**

1. Первый в анамнезе ишемический инсульт.
2. Инфаркт в бассейне артерий каротидной системы и вертебробазилярной системы, установленный с помощью МРТ головного мозга
3. Время поступления больных – первые 48 ч от начала заболевания.
4. Тяжесть неврологических нарушений по шкале Национального института здоровья от 4 до 23 баллов.

#### **Критерии исключения больных из исследования**

1. Легкий (менее 4 баллов по шкале инсульта Национального института здоровья) или тяжелый (более 25 баллов по шкале инсульта Национального института здоровья) инсульт.

2. Субарахноидальное кровоизлияние, гематома мозга.
3. Другие (не сосудистые) заболевания центральной нервной системы.
4. Онкологические заболевания; тяжелые формы ишемической болезни сердца; острый инфаркт миокарда; хроническая легочная, почечная и печеночная недостаточность.
5. ВИЧ-инфекция.
6. Беременность, период лактации.

### **2.1 Клинико-неврологическое обследование больных**

Уровень бодрствования больных в остром периоде ишемического инсульта оценивался по шкале комы Глазго (Easdale G., Jennett B., 1974). Суммарный балл по шкале комы Глазго равный 15 соответствовал ясному сознанию; 14-12 - оглушению; 11-9 - сопору; менее 8 - коме.

Степень тяжести неврологических нарушений определяли по шкале инсульта Национального института здоровья (NIHSS; Brott T., Adams H.P., 1989):

- 1) легкая степень неврологических нарушений (менее 7 баллов);
- 2) умеренная степень неврологических нарушений (7-14 баллов);
- 3) тяжелая степень неврологических нарушений (более 14 баллов).

Степень функциональных нарушений оценивалась при помощи индекса Бартел и модифицированной шкалы Рэнкина.

Инсульт легкой степени тяжести (NIHSS менее 7 баллов, индекс Бартел более 75 баллов, mRS менее 2 баллов) наблюдался у 42 (%) больных; средней степени тяжести (NIHSS 7-14 баллов, индекс Бартел 70 - 60 баллов, mRS 2-3 балла) – у 55 (%) больных; тяжелой степени (NIHSS более 14 баллов, индекс Бартел менее 50 баллов, mRS 4 балла) – у 2 больных.

При легком инсульте отмечались пирамидная недостаточность, легкие двигательные нарушения (геми- или монопарез), гипестезия, легкий парез

нижней мимической мускулатуры и дизартрия, легкие нарушения речи. Возможно полное самообслуживание.

Нарушение неврологических функций средней степени тяжести было связано с умеренно выраженными двигательными нарушениями (гемипарез), гипестезией, нарушениями речи, частичной зависимостью от окружающих.

При тяжелом инсульте наблюдались двигательные нарушения (гемиплегия или значительно выраженный гемипарез), дизартрия или афазия, а также агнозия, расстройства праксиса, полная зависимость от окружающих в повседневной жизни.

## **2.2. Методы исследования клеточного и гуморального иммунитета**

### **Определение клеточного иммунитета**

Для оценки клеточного иммунитета использовали показатели иммунофенотипирования клеток крови – процентное и абсолютное содержание популяции Т и В лимфоцитов крови, их основные субпопуляции: Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток, субпопуляции натуральных киллеров (НКклетки). Фенотипирование лимфоцитов крови проводилось методом проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре (Beckman Coulter EPICS XL, USA) с помощью наборов моноклональных антител (МкАТ). Более точное и информативное исследование субпопуляций достигается при анализе лимфоцитов по двойной метке, поэтому к образцу крови добавляли одновременно два типа МкАТ, несущих на себе различные флуоресцентные красители. Для окрашивания клеток использовали 2 панели МкАТ, меченых FITS (изотиоционат флуоресцеина) и PE (фикоэритрин) к последующим маркерам: CD3, CD19, CD4, CD 8, CD16, CD56, CD25, CD3/HLA-DR, CD 95, CD45RA, CD45R0. Первые 5 перечисленных МкАТ позволили определять основные субпопуляции лимфоцитов: В, Т, Т-хелперы, Т-цитотоксические клетки, натуральные или естественные киллеры (НКклетки). Для выявления дисбаланса в составе иммунорегуляторных субпопуляций определяли величину

РИ, представляющего отношение % содержания субпопуляций фенотипов клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>.

Оставшиеся 5 МкАТ использовали для выявления экспрессии разного типа активационных маркеров. Экспрессия CD25 выявляет активированные Т-клетки, экспрессирующие рецептор к ИЛ-2; HLA-DR антиген присутствует на антигенпрезентирующих клетках и активированных клетках; CD 95 или Fas антиген – на клетках, которые при взаимодействии с FasL опосредуют вступление клетки в апоптоз. Отношение фенотипов клеток, экспрессирующих маркеры CD45RA и CD45RO, использовали для оценки баланса Т-хелперов и клеток «иммунологической памяти». Абсолютное количество клеток определяли с использованием данных гематологического анализа.

Исследования иммунного статуса выполнены в 1-2 сутки, на 7 и 21 сут от начала инсульта. При оценке результатов использовали референсные значения показателей, заложенных в программу цитомера в виде компьютерной нормы. В качестве таковых были использованы данные о среднестатистическом содержании основных субпопуляций в крови 362 условно здоровых лиц [41].

Группу сравнения составил 31 больной с «неосложненной» АГ и атеросклерозом; в числе которых было 18 женщин и 13 мужчин. Средний возраст больных этой группы - 58 лет.

### **Методы исследования гуморального иммунитета.**

#### **Определение классов иммуноглобулинов**

Исследование основных классов иммуноглобулинов является обязательным для оценки функционирования гуморального звена иммунной системы. Этот показатель позволяет выявить первичные и вторичные иммунодефицитные состояния, а также проводить динамическое слежение за нормализацией функций иммунной системы в процессе проводимой иммуномодулирующей терапии при ряде острых и хронических заболеваний, сопровождающихся изменениями в иммунной системе.

Для оценки гуморального иммунитета выявляли содержания основных классов иммуноглобулинов (Ig G, IgA, IgM) в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии (Manchini G. (1965). Метод основан на реакции образования нерастворимого комплекса, выявляемого иммуноглобулина со специфическими антителами (АТ) к нему в тонком слое агара. Для определения уровней Ig G, IgA, IgM (г\л) использовали диагностикум НПЦ «МедБиоСпектр» г. Москва.

### **Определение иммунных комплексов.**

В настоящее время переоценивается биологическая роль иммунных комплексов (ИК), так как появляется все больше доказательств разнообразных физиологических последствий формирования в организме человека комплекса антиген-антитело. Образование этого комплекса активизирует систему комплемента, способствует выбросу в кровь значительного количества анафилоксинов, изменяет хемотаксис полиморфно-ядерных фагоцитов, увеличивает сосудистую проницаемость, вызывая микротромбозы и местные ишемии.

Предлагаемый вариант метода позволяет выявлять ИК разных величин, дифференцировать их соотношение в зависимости от характера патологического процесса и интегрально оценивать полноценность механизмов, осуществляющих нейтрализацию и элиминацию антигенов в организме.

Определение ИК основано на возможности последовательного осаждения фракционного состава крупных, средних и мелких комплексов с помощью возрастающих концентраций 2%, 3,75%, 5,5% растворов полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 6000 (в боратном буфере, рН=8,4). Количество осаждаемых ИК определяли по разности оптических плотностей образующего преципитата, измеряемого на спектрофотометре КФК-3-01 при длине волны  $L = 450$  нм. Результаты измерений выражали в условных единицах (усл. ед) в

перерасчете на 1мл.раствора с исследуемым разведением образца. (Фролов В.М. и др., 1986 г.)

### **2.3. Определение содержания растворимых молекул адгезии**

Молекулы межклеточного взаимодействия экспрессируются клетками иммунной системы и эндотелиальными клетками и служат для миграции клеток иммунной системы и взаимодействия между ними при воспалении и иммунном ответе.

Содержание спектра растворимых молекул адгезии sPECAM-1, sE-selectin, sP-selectin, sICAM-1, sICAM-3, sVCAM-1 определяли методом проточной лазерной цитометрии на цитофлюориметре (Beckman Coulter EPICS XL, USA) с использованием тест-систем Bender-Medsystems. Эти тест-системы дают возможность определять в одном образце сыворотки крови одновременно несколько анализов молекул адгезии [150].

Z0018981.LMD

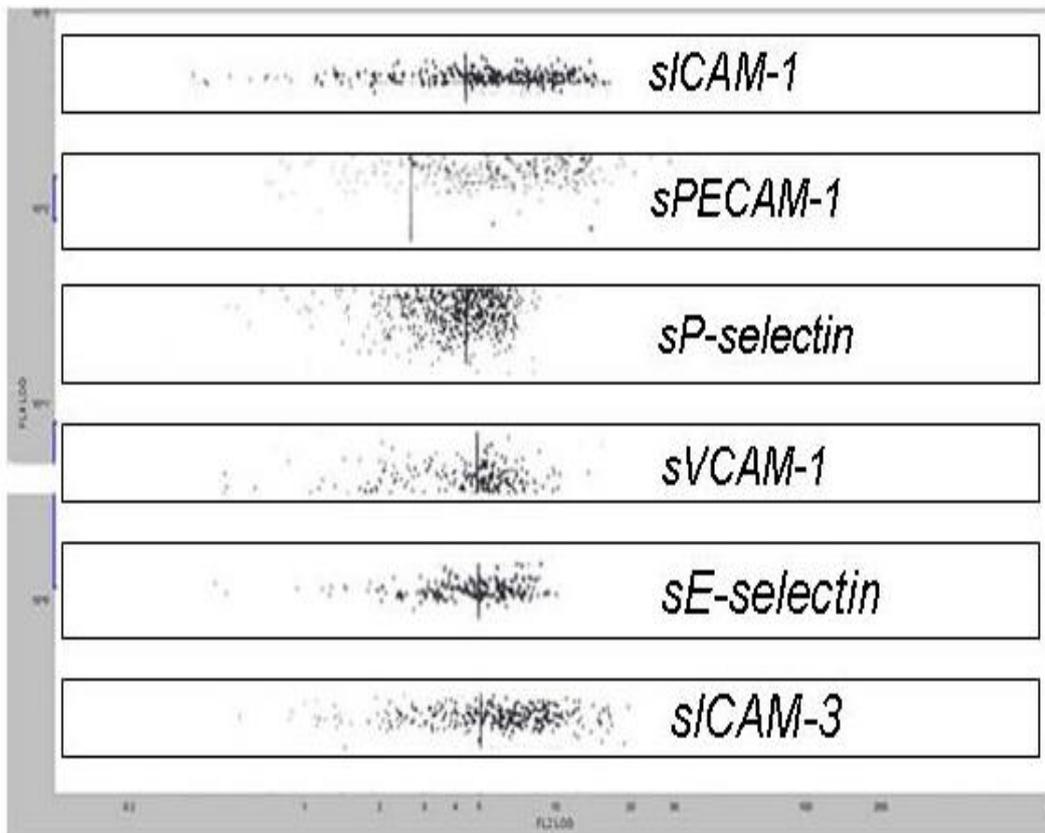


Рисунок 2.1. Гистограмма распределения молекул адгезии

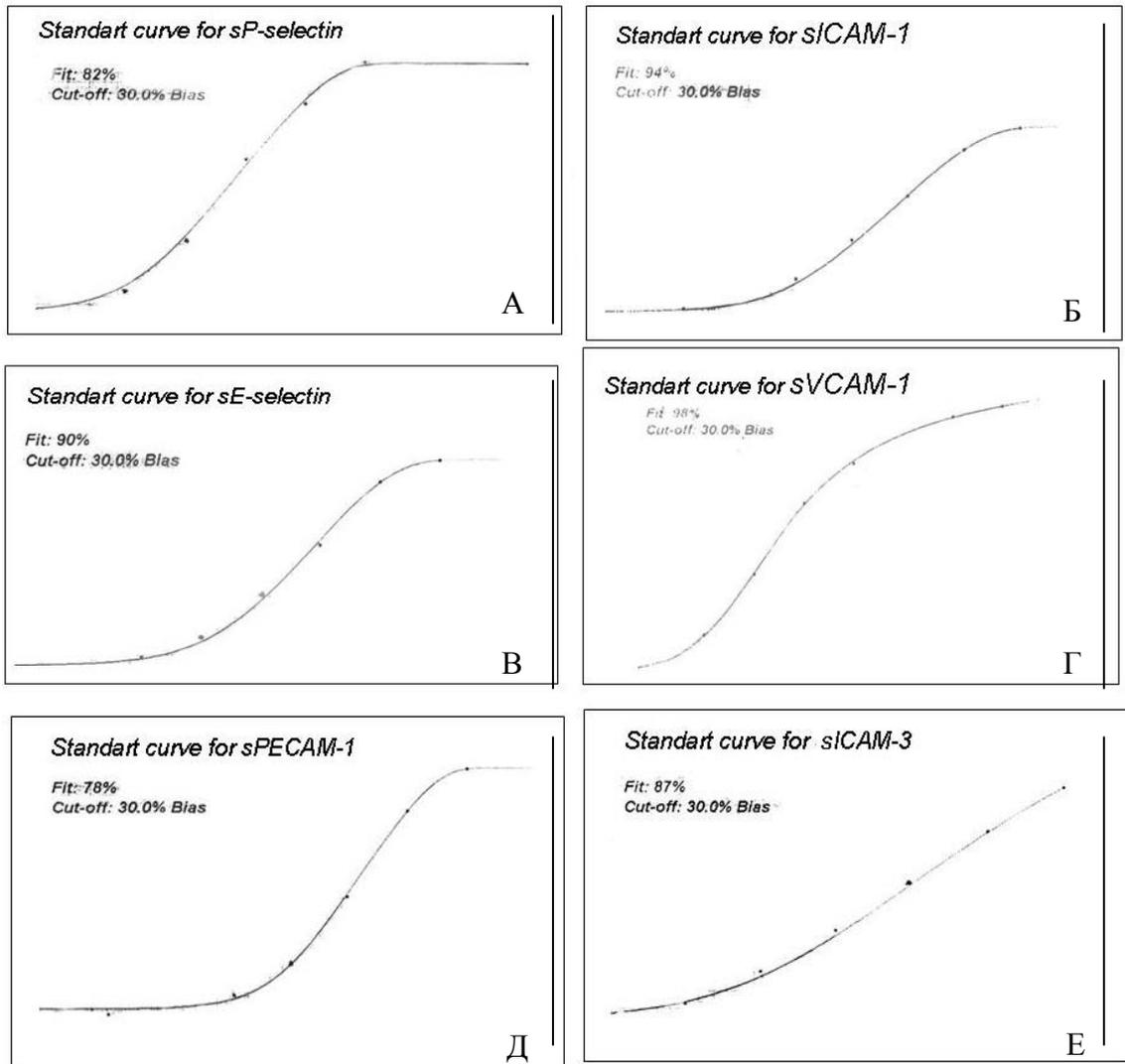


Рисунок 2.2. Кривые стандартов молекул адгезии

- А. Стандартная кривая для sP-селектина
- Б. Стандартная кривая для sICAM-1
- В. Стандартная кривая для sE-селектина
- Г. Стандартная кривая для sVCAM-1
- Д. Стандартная кривая для sPECAM-1
- Е. Стандартная кривая для sICAM-3

Концентрацию молекул адгезии определяли посредством флюоресцентных микрочастиц, конъюгированных с антителами к исследуемому образцу. В качестве конъюгата использовали стрептавидин, меченый фикоэритрином. В ходе исследования первоначально по параметрам светорассеяния выделяли 2 популяции микрочастиц и анализировали каждую популяцию по интенсивности флюоресценции (см. рис.2.1). Концентрацию

исследуемого вещества вычисляли в  $\text{ng/ml}$  по калибровочному графику с использованием специального программного обеспечения (см. рис. 2.2) [150].

Для исследования показателей гемостаза взятие крови проводилось натощак из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Определение вязкости крови (ВК) проводилось на ротационном вискозиметре (АКР-2) при различных скоростях сдвига ( $210 \text{ c}^{-1}$  и  $10 \text{ c}^{-1}$ ). Гематокрит (Ht) исследовался по общепринятой методике на гематокритной центрифуге. Коагулологические исследования проводились на автоматическом коагулометре ACL, 9000. Содержание фибриногена (ФГ) исследовали по методу Клауса, основанного на добавлении тромбина к плазме с последующим определением времени свертывания крови. В тесте определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) используется связывающий активатор, обладающий высокой активностью в отношении XII фактора. Международное нормализованное отношение (МНО) рассчитывается как отношение протромбинового времени больного к протромбиновому времени нормальной плазмы, возведенное в степень международного индекса чувствительности. По общепринятой методике проводилось определение протромбинового индекса [ПТИ] и протромбинового времени [ПТВр]. Рассчитывался индекс фибринолиза (ИФ). Определение антигена к фактору фон Виллебранда (фФВ) проводилось иммунотурбодиметрическим латексным методом.

#### **2.4 Статистический анализ данных**

Применялись параметрические и непараметрические критерии оценки статистической значимости различий. Определялись средние значения и их 95% доверительные интервалы (М и 95% ДИ). Достоверность групповых различий для независимых совокупностей, не подчиняющихся нормальному распределению, оценивали с помощью медианного критерия для независимых выборок, определения 25% и 75% квартилей ( $Me [25\%; 75\%]$ ) и критерия Краскела-Уоллиса для независимых выборок. При сопоставлении двух

зависимых групп по количественному признаку использовали метод Вилкоксона. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3. Результаты исследования

#### 3.1. Клиническая характеристика больных с ишемическим инсультом

Обследовано 64 больных (36 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 42 до 82 лет (средний возраст  $62,4 \pm 12,4$  лет) с первым в анамнезе инсультом. Основным сосудистым заболеванием у всех больных была артериальная гипертония в сочетании с атеросклерозом.

Определение степени тяжести инсульта, проведенное с помощью шкалы оценки неврологического статуса (NIHSS) показало, что при поступлении (первые 48 ч) тяжесть неврологической симптоматики в среднем по группе составила 6 баллов [4; 10]. Степень функциональных нарушений составила по шкале Бартела 40 баллов [10;60].

Таблица 3.1.1. Индекс Рэнкина (первые 48 ч от момента инсульта)

		Частота	Процент	Валидный процент	Кумулятивный процент
Валидные	1	3	4,8	4,8	4,8
	2	9	14,3	14,5	19,4
	3	20	31,7	32,3	51,6
	4	22	34,9	35,5	87,1
	5	8	12,7	12,9	100,0
	Итого	62	98,4	100,0	
Пропущенные	Системные пропущенные	1	1,6		
Итого		63	100,0		

В неврологическом статусе у всех больных определялись различной степени двигательные (контралатеральные гемипарезы или монопарезы) и чувствительные нарушения в сочетании с нарушением иннервации лицевого и подъязычного нерва. Также выявлялись нарушения речи в виде афазии и дизартрии, незначительно выраженные нарушения гнозиса и праксиса.

В соответствии с критериями TOAST в исследование были включены 35 больных с атеротромботическим инсультом, 18 больных с кардиогенным эмболическим инсультом, 11 больных с лакунарным инсультом.

Оценка тяжести неврологической симптоматики пациентов с различными подтипами ишемического инсульта представлена в табл. 3.1.2.

Таблица 3.1.2. Оценка тяжести неврологической симптоматики при различных подтипах инсульта

Шкала оценки тяжести неврологической симптоматики	Подтип инсульта		
	Атеротромботический инсульт	Кардиогенный эмболический инсульт	Лакунарный инсульт
NIHSS (в баллах)	7 [5; 10]	6 [4; 12]	4 [3; 9]

Среди всех пациентов с ишемическим инсультом, больные с атеротромботическим и кардиогенным эмболическим инсультом при поступлении имели наибольшую выраженность неврологических нарушений. Больные с лакунарным инсультом при поступлении имели наименьшую выраженность неврологических нарушений по сравнению с пациентами остальных групп.

Таблица 3.1.3. Характеристика очаговых изменений в мозге при разных подтипах инсульта

Подтип инсульта	Распределение больных по величине инфаркта			
	Обширный инфаркт	Большой инфаркт	Средний инфаркт	Малые глубинные инфаркты
Атеросклеротическая окклюзия или тромбоз (n=20)	-	20	-	-
Артерио-артериальная атеро- и тромбоемболия (n=15)	-	-	15	-
Кардиогенная эмболия (n=18)	-	10	8	-

Гипертензивные малые глубинные инфаркты (n=11)	-	-	-	11%
--	---	---	---	-----

При атеротромботическом и кардиогенном эмболическом инсульте при МРТ диагностированы большие и средние инфаркты, при лакунарном инсульте – малые глубинные (лакунарные) инфаркты головного мозга (табл. 3.1.3).

#### Динамика неврологической симптоматики у обследованных пациентов

К 21 сут инсульта тяжесть неврологической симптоматики в целом по группе составила 3,5 баллов [2;6]. Степень функциональных нарушений составила по шкале Бартела 60 баллов [30;85].

Таблица 3.1.4. Индекс Рэнкина (21 сут)

		Частота	Процент	Валидный процент	Кумулятивный процент
Валидные	0	9	14,3	14,5	14,5
	1	7	11,1	11,3	25,8
	2	16	25,4	25,8	51,6
	3	17	27,0	27,4	79,0
	4	9	14,3	14,5	93,5
	5	4	6,3	6,5	100,0
	Итого	62	98,4	100,0	
Пропущенные	Системные пропущенные	1	1,6		
Итого		63	100,0		

При сравнении показателей тяжести неврологических и функциональных нарушений в первые 48 ч и 21 сут с помощью критерия Уилкоксона получены статистически значимые отличия.

Таблица 3.1.5. Сравнение критерием Уилкоксона.

	сумма баллов по шкале NIHSS 21 сут - 1-2 сут	сумма баллов по шкале Бартела 21 сут - 1-2 сут	индекс Рэнкина 21 сут - 1-2 сут
Z	-5,599 <sup>a</sup>	-5,597 <sup>b</sup>	-5,650 <sup>a</sup>
Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,000	0,000	0,000

Полученные данные свидетельствуют об уменьшении степени тяжести неврологических симптомов (по шкале NIHSS) и функциональных нарушений по шкале Бартела и индексу Рэнкина (табл. 3.1.5) к концу острого периода инсульта.

Данные по динамике неврологических и функциональных нарушений у пациентов с различными подтипами ишемического инсульта представлены в табл. 3.1.6 и 3.1.7.

Таблица 3.1.6. Динамика неврологической симптоматики у пациентов с различными подтипами инсульта по шкале NIHSS

Подтип инсульта	Сумма баллов по шкале NIHSS	
	48 ч	21 сут
Атеротромботический инсульт	7[5;10]	4[2;6]
Кардиогенный эмболический инсульт	6[4;12]	5[2;14]
Лакунарный инсульт	4[3;9]	2[0;4]

Таблица 3.1.7. Динамика функциональных нарушений у пациентов с различными подтипами инсульта

Подтип инсульта	Сумма баллов по шкале Бартела		Индекс Рэнкина (в баллах)	
	48 ч	21 сут	48 ч	21 сут
Атеротромботический инсульт	35[10;50]	55[30;75]	4[3;4]	3[2;3]
Кардиогенный эмболический инсульт	40[23;65]	55[10;88]	3[3;4]	3[2;4]
Лакунарный инсульт	55[20;70]	80[60;100]	3[3;4]	2[0;3]

При сравнении показателей тяжести неврологических и функциональных нарушений у больных с различными подтипами инсульта в первые 48 ч и 21 сут с помощью критерия Уилкоксона получены статистически значимые отличия (табл. 3.1.8).

Таблица 3.1.8. Сравнение критерием Уилкоксона.

**Атеротромботический инсульт**

	сумма баллов по шкале NIHSS 21 сут - 1-2 сут	сумма баллов по шкале Бартел 21 сут - 1-2 сут	индекс Рэнкина 21 сут - 1-2 сут
Z	-4,978 <sup>a</sup>	-4,568 <sup>b</sup>	-4,878 <sup>a</sup>
Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,000	0,000	0,000

**Кардиогенный эмболический инсульт**

	сумма баллов по шкале Бартела 21 сут - 1-2 сут
Z	-1,842 <sup>b</sup>
Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,065

**Лакунарный инсульт**

	сумма баллов по шкале NIHSS 21 сут - 1-2 сут	сумма баллов по шкале Бартел 21 сут - 1-2 сут	индекс Рэнкин 21 сут - 1-2 сут
Z	-2,965 <sup>a</sup>	-2,812 <sup>b</sup>	-2,871 <sup>a</sup>
Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,003	0,005	0,004

Выявлено уменьшения степени тяжести неврологических симптомов (по шкале NIHSS) и функциональных нарушений по шкале Бартела и индексу Рэнкина при атеротромботическом и лакунарном инсульте, и уменьшение функциональных нарушений (улучшение социальной адаптации) при кардиогенном эмболическом инсульте.

### **3.2. Иммунологические изменения в остром периоде ишемического инсульта**

Обследовано две группы больных. Первую группу составил 41 больной; в том числе - 23 мужчины и 18 женщин в возрасте от 42 до 75 лет с ишемическим инсультом в первые 48 ч от момента появления неврологических симптомов. Исследования иммунного статуса выполнены в 1-2 сутки, на 7 и 21 сут от начала инсульта.

Вторую группу (группу сравнения) составил 31 больной с «неосложненной» АГ и атеросклерозом; в числе которых было 18 женщин и 13 мужчин. Средний возраст больных этой группы - 58 лет.

При оценке результатов исследования иммунного статуса больных использовали референсные значения показателей, заложенные в программу цитометра в виде компьютерной нормы. В качестве таковых были использованы данные о среднестатистическом содержании основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови условно здоровых лиц.

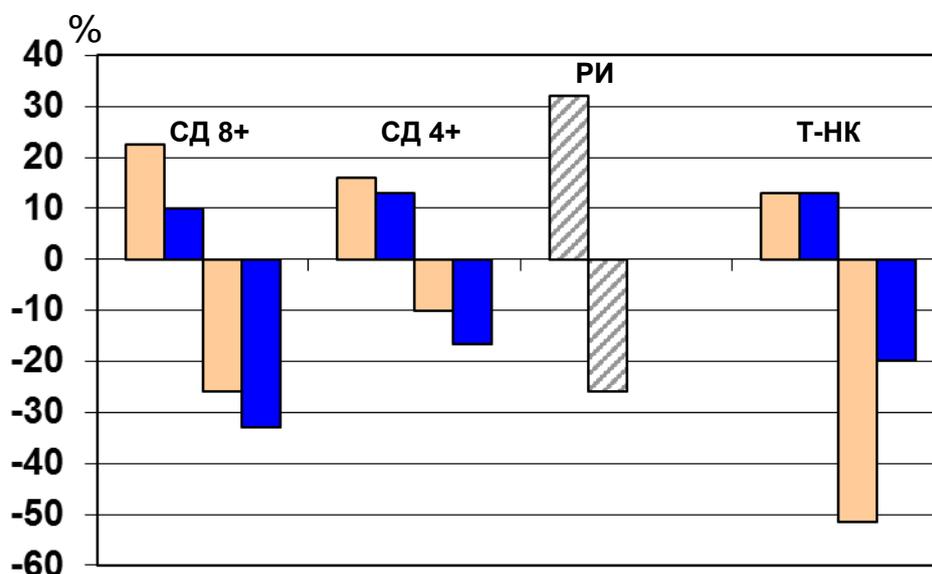


Рисунок 3.2.1. Частота и характер изменений клеточного иммунитета в группе больных АГ

В группе больных АГ чаще всего отмечали снижение процентного, либо абсолютного количества натуральных киллеров (Т-НК клеток) (соответственно у 52% и 20% больных), разнонаправленные изменения содержания цитотоксических CD8+ клеток и величины регуляторного индекса (РИ) [154]. Среднее количество Т-НК клеток по группе больных АГ в целом было на нижней границе нормы (Рис.3.2.1).

Кроме того, обнаружено повышение экспрессии исследованных в работе активационных маркеров лимфоцитов (CD25+, CD95+, CD45R0+) у больных АГ [154,157].

Таким образом, у подавляющего числа больных АГ выявлены изменения показателей клеточного звена иммунитета, представленные дисбалансом субпопуляций CD4+ и CD8+ клеток и изменениями величины РИ, чаще в виде его повышения. В сочетании с дефицитом Т-НК клеток, повышением экспрессии активационных маркеров и уровня IgM, вероятно связанного с поликлональной активацией гуморального иммунитета, выявленные изменения могут отражать развитие аутоиммунного процесса.

В острейшем периоде ишемического инсульта (1-2 сут) изменения фенотипического состава лимфоцитов характеризовались гетерогенностью и большей выраженностью, выявляя признаки иммунной недостаточности с развитием общей лимфопении. Существенно возрастало число больных с дефицитом числа CD3+, CD4+ и CD8+ клеток [154,157].

Данные о характере изменений фенотипического состава лимфоцитов у больных в острейшем периоде ишемического инсульта представлены на рис.3.2.2.

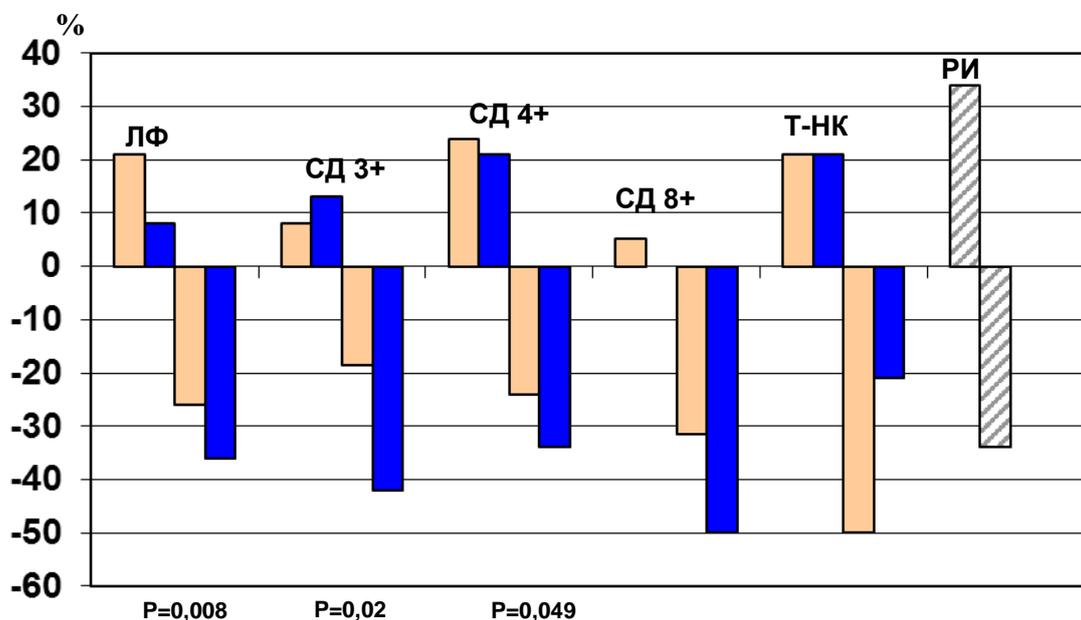


Рисунок 3.2.2. Частота и характер изменений фенотипического состава лимфоцитов у больных в острейшей стадии ишемического инсульта.

Как следует из сравнения данных, представленных на рис. 3.2.1 и 3.2.2, в составе больных с ишемическим инсультом существенно возросло число больных со сниженными показателями отдельных субпопуляций иммунокомпетентных клеток. Нам представляется принципиально важным отметить разнонаправленный характер изменений общего содержания лейкоцитов и % лимфоцитов в крови больных с ишемическим инсультом, выражающийся в значимом снижении относительного содержания лимфоцитов крови на фоне повышения общего содержания лейкоцитов. При этом истинный лейкоцитоз в группе больных с ишемическим инсультом развивался лишь в единичных случаях. Следует также заметить, что указанный тип изменений содержания лейко- и лимфоцитов крови в острейшем периоде инсульта оказался наиболее типичным и характерным по сравнению с изменениями других субпопуляций. О закономерном характере указанной динамики свидетельствовали данные статистического анализа. Из общего числа изученных параметров иммунитета (25 показателей) при сравнении всей группы больных ишемическим инсультом с группой больных АГ выявленные изменения со статистически значимыми различиями в острейшем периоде ишемического инсульта были представлены лишь уже указанными лейкоцитозом с лимфопенией и повышением содержания IgM. В отношении других показателей иммунитета обнаруживался гетерогенный характер изменений с их большей или меньшей выраженностью.

В острейшем периоде ишемического инсульта по сравнению с АГ картина изменений фенотипического состава лимфоцитов в целом дополнялась дефицитом популяций CD3+, CD4+ клеток и нарастания дефицита CD8+ клеток.

Изменения гуморального иммунитета в группе больных с ишемическим инсультом в острейшем периоде, помимо повышения IgM, были представлены большим диапазоном (от 4,28 до 22,61 г/л) разнонаправленных отклонений содержания IgG без значимых различий его среднего уровня по сравнению с

группой больных АГ. Вместе с тем, у 12 больных в острейшем периоде ишемического инсульта, что составило 33% от числа обследованных лиц, уровень IgG был значительно снижен (в диапазоне от 4,28 до 8,48 г/л), что можно расценивать как проявление иммунодефицитного состояния гуморального звена иммунитета [157].

Таким образом, для острейшего периода ишемического инсульта характерна дисрегуляция клеточного звена врожденного иммунитета с дисбалансом субпопуляций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток, разнонаправленными изменениями показателя РИ и содержания Т-НК клеток. Общая картина изменений иммунного статуса у больных в острейшем периоде ИИ, представлена лейкоцитозом с лимфопенией, сочетанием признаков дисрегуляции и иммунодефицита клеточного и гуморального звеньев иммунитета, что может predispose к развитию в постинсультном периоде осложнений, связанных, как с иммунной недостаточностью, так и с аутоиммунными проявлениями [157].

Дефицит Т-системы иммунитета может быть обусловлен скоплением лимфоцитов в лимфоидных органах и задержкой выхода их предшественников на фоне ишемии мозга. Уменьшение зрелых Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), иммунорегуляторных субпопуляций – Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) также можно объяснить проникновением их через нарушенный гематоэнцефалический барьер в очаг ишемии и участием в локальном иммунном ответе. Снижение содержания IgG можно расценивать как проявление иммунодефицитного состояния гуморального звена иммунитета.

При анализе данных динамического наблюдения за показателями клеточного и гуморального иммунитета у больных в 7 и 21 сут острого периода ишемического инсульта отмечена частичная редукция ряда изменений, характерных для острейшего периода инсульта. Уже в 7 сут от начала инсульта отмечалась положительная динамика показателей фенотипического состава

лимфоцитов с возрастанием % содержания лимфоцитов крови и количества CD4+ клеток, у части больных, это сопровождалось повышением показателя РИ. Вместе с тем, проявления дефицита субпопуляций Т-НК клеток и, особенно, CD8+ клеток у значительной части больных сохранялась, как на 7, так и 21 сут постинсультного периода. Отклонения от нормальных значений показателя РИ, к 21 сут от начала инсульта сохранялись у 70% больных [157].

Данные, отражающие динамику наиболее характерных изменений фенотипического состава лимфоцитов в 7 и 21 сут острого периода ишемического инсульта, представлены рис. 3.2.3.

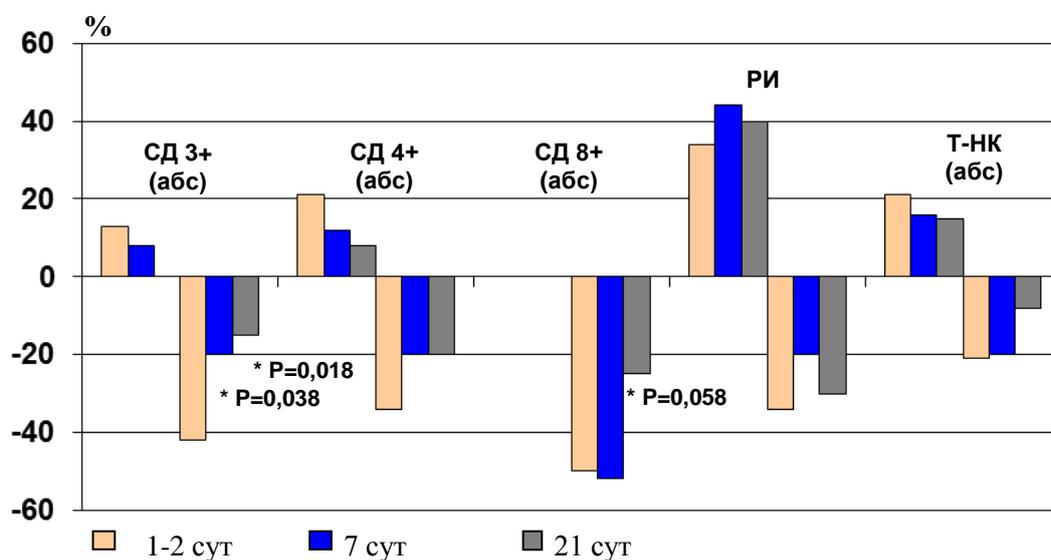


Рисунок 3.2.3. Динамика изменений фенотипического состава лимфоцитов в различные сроки острого периода (1-2 сут, 7 и 21 сут) ишемического инсульта.

Оценка функциональной активности клеточного звена иммунитета, как отмечалось ранее, проведена на основании данных о численности субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих ряд активационных маркеров. Используемый в работе набор моноклональных антител позволял определять: 1. активированные Т клетки, экспрессирующие рецептор к ИЛ-2 (CD3+ CD25+); 2. Т клетки с маркером «поздней» активации (CD3+, HLA-DR+); 3. клетки, несущие рецептор к CD 95 антигену - молекуле, опосредующей апоптоз. Кроме того, об активации клеток иммунной системы судили по

показателю индекса отношения двух субпопуляций хелперов, известных, как «наивный» фенотип (CD4+/CD45RA) и фенотип клеток «иммунологической памяти» - (CD4+/CD45R0) [157]. В условиях нормы, как известно, количество клеток наивного фенотипа в два раза превышает число клеток фенотипа CD4+/CD45R и индекс их отношения равен 2. Наконец, определяли малочисленную популяцию с фенотипом CD3+, CD16+, CD56, известную как Т-НК клетки. Численность и функции этих клеток остаются мало изученными, однако, предполагается их связь с аутоиммунными процессами; им отводится также важная регуляторная роль в продукции цитокинов.

Данные по динамике экспрессии активационных маркеров лимфоцитов у больных в разные сроки острой стадии инсульта представлены в табл. 3.2.1.

Таблица 3.2.1. Показатели экспрессии маркеров активации лимфоцитов в разные сроки острого периода ишемического инсульта

Показатели	1-2 сут Median { Quartile }	7 сут Median { Quartile }	21 сут Median { Quartile }
Т - НК	8,0 [5,6; 12,5]	7,4[4,6; 11,25]	* 7,1 [4,4; 8,9] <b>p = 0,04</b>
CD95+	45,9 [40,3;53,4]	44,7 [37,8; 47,9]	* 43,2 [36,8; 47,9] <b>p = 0,03</b>
CD25 +	33,0 [29,3;36,5]	31,6 [24,7; 38,4]	31,1 [28,2; 35,2]
CD45RA/R0	0,33 [0,18;0,49]	0,33 [0,18; 0,53]	0,33 [0,15; 0,45]
HLA-DR+	6,4 [4,1; 10,2]	6,2 [4,3; 8,5]	5,9 [3,6; 9,6]

*\* статистически значимые различия при сравнении данных в 1-3 сут и 21 сут ишемического инсульта по критерию Вилкоксона.*

Как видно из представленных данных, удалось отметить статистически значимую динамику экспрессии маркеров активации лимфоцитов в разные сроки инсульта. Полученные результаты указывают на снижение содержания Т-НК и CD95 + клеток к концу острого периода инсульта. Однако высокий

уровень экспрессии всех изученных в работе маркеров активации у больных при этом сохраняется, о чем свидетельствуют опубликованные данные ряда авторов о содержании перечисленных маркеров в крови практически здоровых лиц.

Так, содержание лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген, у доноров составляет, по данным метода непрямой иммунофлюоресценции,  $26,8 \pm 15,6\%$ ; по данным проточной цитометрии - 25-30%. В публикациях других авторов (Кетлинский С.А., Калинина Н.М., 1998) приводятся данные о более низком содержании - 5-7% CD 95+ клеток в крови практически здоровых лиц. Содержание клеток, экспрессирующих маркеры CD25+, HLA-DR и маркеры T-НК клеток, в норме не превышает 5%. Результаты наших исследований свидетельствуют о значительном повышении экспрессии активационных маркеров лимфоцитов, как в группе больных АГ, так и в группе ишемического инсульта.

Таблица 3.2.2. Показатели клеточного и гуморального иммунитета при различных подтипах инсульта в первые 48 ч инсульта

Показатели	Подтип инсульта			Здоровые лица
	Атеротромботический инсульт (n=29)	Кардиогенный эмболический инсульт (n=13)	Лакунарный инсульт (n=11)	
Лейкоциты (абс.ч. в мм <sup>3</sup> )	7700*↑ [600;8700]	7400*↑ [600;9100]	6900*↑ [640;8300]	5065 [4300;6350]
Лимфоциты (абс.ч. в мм <sup>3</sup> )	1850↑ [1400;2500]	1242*↓ [814;2262]	2024*↑ [1216;2656]	1675 [1350;2075]
T-лимф. (CD3+),%	73,1*↑ [68,9; 80,4]	77,2*↑ [68,9; 83,1]	76,7*↑ [63,2; 79,9]	62 [56;68]
T-лимф., абс	1559*↑ [1092;1726]	760*↓ [577;1686]	1617*↑ [768;2077]	1081 [784;1311]
T-хелперы (CD4+), %	41,7 [41,7; 51,3]	52,2*↑ [47,5; 56,6]	43,4 [41,7; 58,2]	39 [32;43]
T-хелперы, абс	1038*↑ [625;1305]	548 [359;1251]	1129*↑ [570;1244]	598 [480;823]
T-супрессоры (CD8+),%	23,1 [17;31]	21,4 [19,8;24,7]	25,9 [14,2;29,4]	23 [8;29]
T-супрессоры, абс	439 [335;613]	286*↓ [166;484]	405 [225;551]	396 [276;512]
T-НК (CD16+),%	12,1 [8,8;16,5]	10,7 [5,9;17,8]	11,5 [8,5;22,7]	13,5 [8;18]
НК, мм <sup>3</sup> , абс	235 [133;346]	154*↓ [46;270]	270 [179;372]	232 [124;303]

T-НК, %	11,5 [71,0;15,9]	11,0 [7,2;19,3]	11,9 [6,7;23,6]	
T-HLA/DR,%	5,7*↓ [4,5;8,3]	6,4*↓ [3,8;9,4]	3,8*↓ [1,4;12,0]	14 [11;25]
CD4/CD8	2,0 [1,4;2,8]	2,5*↑ [1,8;2,5]	2,2 [1,3;3,6]	1,6 [1,3;2,1]
CD25+,%	33,2*↑ [27,5;41,5]	29,7*↑ [18,4;33,5]	31,2*↑ [21,2;40,1]	11 [6;13]
CD95+,%	52,4*↑ [44,0;60,2]	44,6*↑ [34,2;68,2]	44,9*↑ [41,5;52,1]	17,5 [12;30]
CD45RA/CD45RO	0,31 [0,13;0,50]	0,45 [0,20;0,73]	0,36 [0,18;0,47]	
В- лимф. (CD20+),%	10,5*↓ [7,2;12,8]	7,7*↓ [5,9;12,7]	12,3*↓ [8,2;14,2]	20 [15;28]
В-лимф., абс	192*↓ [127;271]	74*↓ [65;196]	259*↓ [158;312]	336 [195;500]
Ig G	11,9 [7,7;16,1]	11,2 [9,6;18,4]	17,8*↑ [14,9;22,6]	12,1 [11,3;12,9]
Ig A	2,6 [2,2;3,5]	3,7*↑ [2,3;4,9]	3,6*↑ [2,5;4,7]	2,2 [1,8;2,6]
Ig M	1,9*↑ [1,3;2,9]	1,4 [1,2;1,9]	1,8*↑ [1,4;2,0]	1,2 [1,1;1,4]
ЦИК1	10,5*↓ [5,0;19,0]	14,0 [4,0;23,0]	7,0*↓ [5,0;11,0]	17 [13;25]
ЦИК 2	30*↓ [20;38]	37 [23;51]	30*↓ [25;44]	39 [33;45]
ЦИК 3	75*↓ [70;101]	101*↑ [80;166]	91 [76;93]	83 [68;88]

Характерным для острого периода всех подтипов инсульта является разнонаправленность относительного (процентного) и абсолютного содержания Т-клеток, субпопуляций CD4+, и в меньшей степени и цитотоксических супрессоров (CD8+). Выявлен высокий уровень экспрессии маркеров активации лимфоцитов CD25+ и CD95+.

Кроме того, в начале острого периода кардиогенного эмболического инсульта было отмечено повышение показателей иммунологического регуляторного индекса (ИРИ — отношение CD4+/CD8+). Это было обусловлено повышением процентного содержания CD4+ клеток, при относительной сохранности CD8+ клеток.

В начале острого периода всех подтипов инсульта отмечалось снижение содержания HLA/DR. Следует отметить, что характерной для начала при всех подтипах инсульта была высокая экспрессия CD95+ фенотипа, маркера Fas-

антигена, что, возможно, обусловлено миграцией активированных лимфоцитов в очаг ишемии.

В подгруппах больных с атеротромботическим и лакунарным инсультом выявлено снижение мелкомолекулярной и среднемолекулярной фракций циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), в подгруппе с кардиогенным эмболическим инсультом – повышение средне - молекулярной фракции ЦИК.

В подгруппе больных с атеротромботическим инсультом обнаружено повышение Ig M, с кардиогенным эмболическим инсультом – Ig A, с лакунарным инсультом - Ig M, IgG и Ig A.

Таким образом, исследование фенотипов основных субпопуляций лимфоцитов (CD4+, CD8+) и активированных клеток (CD25+, CD95+, HLA/DR+), а также показателей гуморального иммунитета выявило изменение иммунограмм при всех подтипах инсульта в начале острого периода.

### **3.3. Факторы межклеточного взаимодействия при ишемическом инсульте**

Обследовано 29 больных с ишемическим инсультом в артериях каротидной системы в первые сутки от момента появления неврологических нарушений. Исследования содержания молекул адгезии выполнены в динамике в первые 48 ч и 21 сут от начала инсульта. Выделено две группы больных, в зависимости от тяжести неврологической симптоматики [150].

1. Первая группа - больные с ишемическим инсультом средней степени тяжести. В нее вошли 21 больной в остром периоде ишемического инсульта (11 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 42 до 75 лет.

Эта группа пациентов была разделена на две подгруппы.

а) первая подгруппа - больные с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом типа 2 - 8 пациентов.

б) вторая подгруппа – больные с ишемическим инсультом без сахарного диабета - 13 пациентов.

2. Вторая группа - больные с ишемическим инсультом и тяжелой степенью неврологических нарушений. В нее вошли 8 пациентов (3 женщины и 5 мужчин) в возрасте от 43 до 82 лет [150].

Определение степени тяжести неврологических нарушений проводилось по шкале инсульта Национального института здоровья (NIHSS). На основании суммарного балла все больные были разделены в две группы: инсульт средней степени тяжести – 7-16 баллов и тяжелый инсульт – более 17 баллов. У больных с тяжелым инсультом средний балл неврологических нарушений при поступлении составил  $19 \pm 2$  баллов, на 21 сутки -  $9 \pm 3$  баллов. Средний балл неврологических нарушений у больных с инсультом средней степени тяжести в первые 48 ч составил  $9 \pm 4$  баллов, на 21 сутки –  $3 \pm 1$  балла.

В качестве иммунологических маркеров дисфункции эндотелия исследовали спектр растворимых молекул адгезии [150]:

- sICAM-1 (CD54) - молекула межклеточной адгезии 1-го типа (intercellular adhesion molecule);
- sPECAM-1 (CD31) - молекула 1-го типа адгезии тромбоцитов к эндотелиоцитам (platelet/endothelial cell adhesion molecule);
- sP- selectin (CD62P) - тромбоцитарный селектин (platelet selectin);
- sE-selectin (CD62E) - эндотелиальный селектин;
- sICAM-3 (CD50) - молекула межклеточной адгезии 3-го типа (intercellular adhesion molecule - 3);
- sVCAM-1 (CD106) – молекула адгезии сосудистой стенки 1-го типа (vascular cell adhesion molecule).

Результаты исследования молекул адгезии приведены в табл. 3.3.1.[150].

Таблица 3.3.1. Динамика растворимых молекул адгезии у больных с ИИ

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*\*  $p < 0,0001$  различия статистически

I группа -больные с ишемическим инсультом (ИИ) средней степени тяжести						
1а - подгруппа больных ИИ, осложненным сахарным диабетом типа 2						
Показатели <i>ng/ml</i>						
День Исследований	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	816,7**** [591,9;1202]	280,8**** [156,2;404,6]	613,4*** [234,3;856,6]	799,0*** [632;1064]	228,9*** [158,54;333,7]	395,6** [225,8;835,3]
	n=8	n=8	n=8	n=7	n=6	n=6
21 сут	824,2**** [299,9; 1121]	216,6*** [189,24;320]	644,0*** [ 330;1002]	694,3 [580;1478]	185,8*** [121,5;313,9]	381,5*** [171,7;511,9]
	n=8	n=8	n=8	n=7	n=6	n=6
1б - подгруппа больных ИИ без сахарного диабета						
Показатели <i>ng/ml</i>						
День исследований	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	571,8**** [219,4;996,1]	218,3* [137,7;341,7]	436,1*** [154,9;801,4]	602,7 [272,1;1232]	185,5*** [71,91;228,1]	292,2 [209,1;344,2]
	n=13	n=13	n=8	n=10	n=10	n=8
21 сут	526**** [241,1;1037]	185,4 [127,7;276,7]	370,3** [107,2;526,8]	607,2* [338,9;873,3]	124,1*** [ 69,1;185,1]	270,0 [149,7;342,]
	n=13	n=13	n=8	n=10	n=10	n=8
II группа –больные с тяжелым ишемическим инсультом						
Показатели <i>ng/ml</i>						
День исследований	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	639,2**** [387,6;1211]	249,7*** [152,3;502,5]	563,1*** [135,3;735,5]	754,7* [336;1289]	170,4* [141,4;205,1]	288,3 [153,1;296,4]
	n=8	n=7	n=8	n=6	n=7	n=7
21 сут	626,7**** [ 380,7;1211]	251,6** [121,2;463,4]	549,9*** [213;926,8]	682,7 [420;1479]	256,0* [101,6;871,7]	281,2 [163,5;364,1]
	n=8	n=7	n=8	n=7	n=7	n=7
Контроль n=11	253,2 [159,5;291,5]	157,8 [113,1;181,5]	246,1 [165;30,4]	476,9 [342,6;575]	58,51 [ 39,8;71,9]	268,1 [205,1;365,2]

значимы при сравнении групп и подгрупп с контролем

При анализе содержания молекул адгезии при ишемическом инсульте отмечен однонаправленный характер повышения их уровня, однако к 21 сут ишемического инсульта в некоторых случаях был выявлен гетерогенный характер изменений молекул адгезии.

Уровень межклеточной молекулы адгезии 1-го типа (sICAM-1), экспрессия которой происходит на эндотелии и антигенпредставляющих клетках, был повышен во всех группах больных в первые 48 ч ишемического

инсульта. Так, во второй группе больных (с тяжелым инсультом) и в 1-б подгруппе больных (с инсультом средней тяжести) уровень этой молекулы адгезии повысился в 2,5 и 2,3 раза, соответственно ( $p < 0,0001$ ). К 21 сут от начала ишемического инсульта показатели sICAM-1 оставались высокими. Максимальное повышение экспрессии sICAM-1 было выявлено в 1-а подгруппе больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом типа 2. Уровень экспрессии этой молекулы в первые 48 ч ишемического инсульта превышал контрольные показатели в 3.2 раза ( $p < 0,0001$ ) [158].

Важным иммуногистохимическим маркером ангиогенеза считается sPECAM-1. Уровень этой молекулы был увеличен во всех группах больных с ишемическим инсультом. При этом в первые 48 ч ишемического инсульта во 2 группе и в 1-б подгруппе больных содержание sPECAM-1 повысилось в 1,7 и 1,4 раза, соответственно ( $p < 0,05$ ). В 1-а подгруппе больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом, экспрессия sPECAM-1 увеличилась 1,8 раза и была максимальной,  $p < 0,001$ . К 21 сут ишемического инсульта уровень PECAM-1 во всех группах снизился, но оставался повышенным [150].

Экспрессия тромбоцитарного селектина (sP-selectin) была повышена во всех группах больных ишемическим инсультом. Так, в первые 48 ч ишемического инсульта у больных 2 группы и 1-б подгруппы уровень этой молекулы адгезии повысился в 2,3 раза и 1,7 раза, соответственно, по сравнению с контролем. К 21 сут ишемического инсульта значения sP-selectin в этих группах снизились. Максимальная экспрессия sP-selectin (в 2,5 раза) выявлена у больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом ( $p < 0,001$ ) [150].

Уровень экспрессии молекулы адгезии сосудистой стенки 1-го типа (sVCAM-1), активирующей селективную адгезию лейкоцитов к стенке сосудов, был повышен у всех больных ишемическим инсультом. Во 2-й группе и в 1-б подгруппе больных уровень экспрессии этой молекулы адгезии превышал в 1,6

и 1,3 раза. Наиболее высокое содержание sVCAM-1 (в 1,7 раза выше контрольных значений) наблюдалось у больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом типа 2 ( $p < 0,001$ ). К 21 сут ишемического инсульта ее уровень оставался высоким [150].

Содержание эндотелиального селектина (sE selectin), который обеспечивает роллинг нейтрофилов по эндотелию, было также высоким во всех группах больных. Уровень E-селектина во 2 группе и в 1-б подгруппе пациентов превышало контрольные показатели в 3,2 и 2,9 раза, соответственно ( $p < 0,001$ ). К 21 сут ишемического инсульта уровень этой молекулы адгезии снизился, но не достиг нормы. Максимальная экспрессия E-селектина выявлена в 1-а подгруппе больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом, показатели которой в 3,9 раза превышали контрольные значения ( $p < 0,001$ ). К 21 сут ишемического инсульта содержание E-селектина снизилось [150].

Важную роль в инициации иммунного ответа отводят межклеточной молекуле адгезии 3-го типа (sICAM-3), которая экспрессируется в основном на «покоящихся» лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах. Содержание этой молекулы адгезии во 2 группе и в 1-б подгруппе больных имело лишь тенденцию к увеличению. Статистически значимое повышение уровня sICAM-3 отмечено лишь у больных с ишемическим инсультом, осложненным сахарным диабетом, в первые 48 ч заболевания ( $p < 0,01$ ). К 21 сут инсульта выявлено снижение этого показателя ( $p < 0,001$ ) [150].

Анализ иммунологических маркеров воспаления у больных ишемическим инсультом показал, что изменения их уровня коррелирует с тяжестью неврологической симптоматики.

В качестве примеров приводим случаи с различным течением ишемического инсульта.

1. Пациент Ч. 72 г. Диагноз: острое нарушение мозгового кровообращения с образованием инфаркта в области продолговатого мозга. Атеросклероз.

Артериальная гипертензия. Постоянная форма мерцательной аритмии.  
Сахарный диабет типа 2.

В первые сутки ишемического инсульта степень тяжести неврологических нарушений соответствовала 16 баллам по шкале NIHSS, к 21 сут - 20 баллам по шкале NIHSS.

Уровень исследуемого спектра молекул адгезии (sICAM-1, sPECAM-I, sP-selectin, sVCAM-1, sE-selectin) был максимально высоким в 21 сут заболевания и превышал исходно высокие показатели в 5; 3; 7; 3; 4 раза, соответственно. Состояние больного ухудшилось к 21 сут, он был переведен в реанимационное отделение, в последующем наступил летальный исход (Рис. 3.3.1) [150, 156].

ng/ml

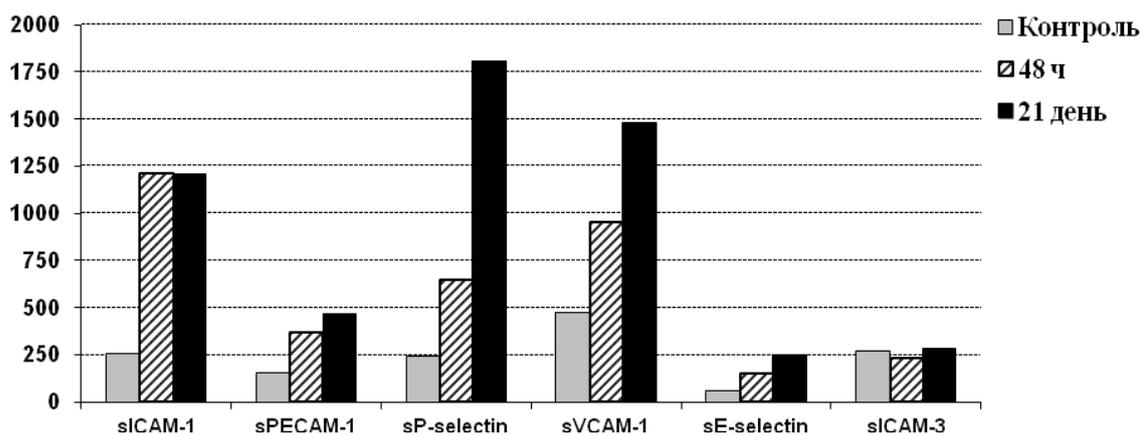


Рисунок 3.3.1. Динамика распределения молекул адгезии у больного Ч.

- Больной Р., 70 лет. Диагноз: острое нарушение мозгового кровообращения с образованием большого инфаркта в левом полушарии большого мозга. При поступлении больного степень тяжести неврологических нарушений составляла 16 баллов по шкале NIHSS. К 21 сут состояние больного улучшилось, тяжесть неврологических нарушений составляла 5 баллов по шкале NIHSS.

При этом первоначально высокие показатели экспрессии молекул адгезии снизились (Рис.3.3.2.) [150,156].

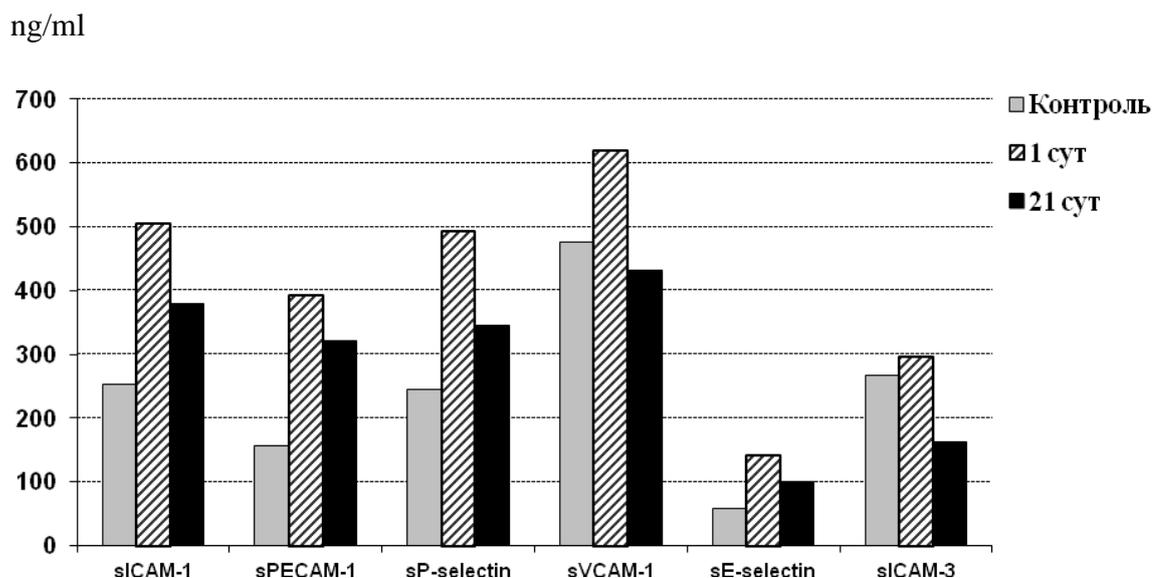


Рисунок 3.3.2. Динамика распределения молекул адгезии у больного Р.

Отдельного внимания заслуживает изучение спектра иммунологических маркеров воспаления (содержания растворимых молекул адгезии) у больных с ишемическим инсультом и сахарным диабетом. Проведено обследование 9 больных с ишемическим инсультом и сахарным диабетом (5 мужчин и 4 женщин) в возрасте от 42 до 75 лет.

При анализе содержания растворимых молекул адгезии в остром периоде ишемического инсульта отмечен однонаправленный характер изменений в сторону увеличения sICAM-I и sVCAM-1 к 21 сут заболевания (табл. 3.3.2). Использование именно этих молекул адгезии для прогноза течения ишемического инсульта у больных сахарным диабетом продиктовано тем, что эти факторы межклеточного взаимодействия являются иммунологическими маркерами эндотелиальной дисфункции и активизируются в области воспаления. При этом различная регуляция этих молекул играет важную роль в адгезии лимфоцитов при ишемическом инсульте. В условиях воспаления, в частности вызванного ишемическим инсультом, их экспрессия повышается под действием продуцируемых провоспалительных цитокинов. при этом sICAM-I является ранним маркером воспаления, в то время как sVCAM-1, является

молекулой адгезии сосудистого эндотелия I типа, поэтому их функции различны в адгезии лимфоцитов.

Таблица 3.3.2. Динамика молекул адгезии в остром периоде ишемического инсульта у больных сахарным диабетом

День исследований	sICAM-1(нг/мл)	sVCAM-1(нг/мл)
1-2 сут	816,7 [591,9;1202]	799,0 [632;1064]
	p<0,0001 n=9	p<0,001 n=9
21 сут	824,2 [299,9; 1121]	694,3 [580;1478]
	p<0,0001; n=9	p<0,005 n=9
Контрольная группа		
	253,2 [160;291]; n=11	476,9 [343; 575]; n=11

Примечание:  $p < 0,005$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$  различия группы больных статистически значимы по сравнению с контролем.

Полученные данные показывают, что уровень внутриклеточной адгезивной молекулы sICAM-1, имеющей важное значение в регуляции функции лейкоцитов и их миграции через эндотелий, повышен как в острейшем периоде ишемического инсульта, так и в 21 сут исследования. Уровень экспрессии sVCAM-1- молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1-типа, обладающей селективной лейкоцитарной адгезией, был также повышен и в острейшем периоде инсульта и в 21 сут.

Снижение экспрессии молекул адгезии к 21 сут ишемического инсульта у больных с сахарным диабетом коррелировало с положительной динамикой неврологических нарушений. Однако нарастание концентрации молекул адгезии в сыворотке крови больных сочеталось с неблагоприятным течением инсульта и предшествовало, в отдельных случаях, летальному исходу.

Таким образом, высокий уровень экспрессии растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 в острейшем периоде инсульта у больных с сахарным диабетом играет важную роль в прогнозе течения его.

Больной С., 50 лет, поступил с жалобами на нечеткость речи, слабость и онемение в правой руке и ноге. Более 15 лет отмечается артериальная

гипертония с максимальными цифрами АД 190/100 мм рт. ст. Около 10 лет назад диагностирован сахарный диабет II типа, по поводу которого принимает в новомикс 50 Ед утром и вечером. Остро появилось онемение и слабость в правой руке и ноге, стала нечеткой и смазанной речь. Объективно: состояние средней тяжести. Телосложение гиперстеническое, повышенного питания. Кожные покровы бледно-розовые, трофические изменения на коже голеней. ЧДД 18 в 1 мин, дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, приглушенные, ЧСС 82 удара в 1 мин, АД 140/90 мм рт. ст. Живот мягкий безболезненный. Тазовые функции не нарушены.

Неврологический статус: сознание ясное. Ориентирован в месте и времени правильно. Менингеальных симптомов нет. Глазные щели, зрачки D=S. Объем движений глазных яблок полный. Сглажена правая носогубная складка. Легкий правосторонний гемипарез. Левосторонняя гемипалгезия.

Биохимический анализ крови: глюкоза - 17,0 ммоль/л, креатинин - 62 мкмоль/л, холестерин - 7,9 ммоль/л, АСТ-16 Ед/л, АЛТ - 13 Ед/л мочевины - 2,92 ммоль/л, триглицериды - 7,26 ммоль/л, ЛПВП - 1,16 ммоль/л, ЛПНП - 3,38 ммоль/л.

МРТ данные соответствуют острому инфаркту в левом полушарии большого мозга, очаговым изменениям в мозжечке, стволе мозга, полушариях большого мозга. При МР-ангиографии отмечается гипоплазия участка V4 левой позвоночной артерии. Асимметрия кровотока по участкам A1 передних мозговых артерий.

Диагноз: Острое нарушение мозгового кровообращения в левом полушарии большого мозга. Дисциркуляторная энцефалопатия, II стадия. Артериальная гипертония. Атеросклероз. Сахарный диабет 2 типа, инсулинопотребный.

Через 48 ч от начала инсульта было проведено исследование маркеров эндотелиальной дисфункции - растворимых молекул адгезии sICAM-1 и

sVCAM-1, уровень экспрессии которых составил - sICAM-872,56 нг/мл и sVCAM-819,21 нг/мл. Полученные данные предполагают неблагоприятное течение ишемического инсульта.

Состояние больного в течение острого периода инсульта оценивалось средней тяжести. На 21 сут проведено повторное исследование маркеров эндотелиальной дисфункции - растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1, уровень экспрессии которых составил - sICAM-1121 нг/мл и sVCAM- 1478 нг/мл. Регресс неврологической симптоматики не наблюдался.

Молекулы адгезии являются иммунологическими маркерами эндотелиальной дисфункции. В условиях воспаления, в частности вызванного ишемией мозга, их экспрессия повышается под действием воспалительных цитокинов.

Представляется важным проанализировать динамику растворимых молекул адгезии при различных подтипах инсульта [150].

Таблица 3.3.3. Динамика растворимых молекул адгезии при различных подтипах инсульта

Подгруппа больных с атеротромботическим инсультом						
День исследований	Показатели <i>ng/ml</i>					
	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	657,2**** [540;1045]	232,5**** [156;259]	673,4*** [331;801]	732,3*** [617;1064]	190,1*** [141;227]	266,2 [179;353]
	n=21	n=21	n=13	n=11	n=15	n=12
21 сут	802,7**** [448; 1091]	220,3*** [186;241]	521,3*** [299;598]	479,0 [873;798]	139,7*** [102;194]	273,4 [158;415]
	n=21	n=21	n=13	n=11	n=15	n=12
Подгруппа больных с кардиогенным эмболическим инсультом						
День исследований	Показатели <i>ng/ml</i>					
	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	572,6**** [388;879]	213,6*** [152;367]	600,6*** [399;735]	688,4* [503;951]	175,4*** [157;195]	287,1 [266;290]
	n=7	n=7	n=6	n=5	n=5	n=5
21 сут	617,4**** [412;1195]	219,2** [165;262]	769,3** [309;1609]	675,1* [588;944]	158,2*** [ 155;159]	316,8 [284;354]
	n=7	n=7	n=6	n=5	n=5	n=5

Подгруппа больных лакунарным инсультом						
День исследований	Показатели <i>ng/ml</i>					
	sICAM-1	sPECAM-1	sP-selectin	sVCAM-1	sE-selectin	sICAM-3
1 сут	653,7**** [573;869]	236,6**** [205;287]	344,8** [182;673]	572,1** [514;620]	218,1**** [72;350]	328,1 [209;588]
	n=4	n=4	n=5	n=5	n=5	n=5
21 сут	643,3**** [ 567;723]	222,6** [180;246]	389,0** [194;452]	460,2 [410;529]	109,0* [69;141]	342,7 [251;579]
	n=4	n=4	n=5	n=5	n=5	n=5
Контроль n=11	253,2 [159,5;291,5]	157,8 [113,1;181,5]	246,1 [165;30,4]	476,9 [342,6;575,1]	58,51 [ 39,8;71,9]	268,1 [205,1;365,2]

*Примечание: \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001, \*\*\*\* p < 0,0001 различия статистически значимы при сравнении групп и подгрупп с контролем*

Согласно полученным данным, в начале острого периода при разных подтипах инсульта с образованием больших, средних и малых инфарктов мозга выявлено повышение уровня sICAM-1 (молекула межклеточной адгезии адгезии 1-ого типа), sPECAM-1 (молекула 1-го типа адгезии тромбоцитов к эндотелиоцитам), sP-селектина, sE-селектина, sVCAM-1 (молекула адгезии сосудистой стенки 1-го типа). К 21 сут атеротромботического и лакунарного инсульта отмечено снижение sVCAM-1, что, возможно, обусловлено проводимой антиагрегантной терапией.

### Заключение

1. Повышение уровня факторов межклеточного взаимодействия (sICAM-1, sICAM-3, sPECAM-1, sP-selectin sE-selectin sVCAM-1) обусловлено развитием инфаркта мозга, нарушением функции сосудистой стенки и гемостаза.
2. Полученные результаты свидетельствуют о взаимосвязи между тяжестью ишемического инсульта и интенсивностью экспрессии иммунологических маркеров эндотелиальной дисфункции.
3. Повышенная экспрессия молекул адгезии при ишемическом инсульте и сахарном диабете, обуславливает особое внимание к коррекции нарушений гемостаза и нейроиммуноэндокринных процессов.

4. Учитывая полученные данные, а также результаты проведенных ранее экспериментальных исследований, можно полагать, что средства, блокирующие межклеточную адгезию, имеют большое значение при разработке новых подходов к лечению ишемического инсульта.

### **3.4. Показатели гемостаза при ишемическом инсульте**

При анализе коагулограммы в первые 48 ч ишемического инсульта установлено повышение уровня фибриногена до 4,1 г/л [3,4; 4,9] (концентрация фибриногена в группе контроля составила 3,6 г/л [2,9; 4,0],  $p=0,0005$ ), удлинение протромбинового времени до 13,3 сек [12,2; 13,6] (в группе контроля - 11,6 секунд [11,1; 12,0],  $p=0,01$ ), уменьшение протромбинового индекса до 74,3% [61,7; 86,7] (в группе контроля - 95% [88; 103],  $p=0,05$ ), удлинение активированного частичного тромбопластинового времени до 30 с [28; 32] (группа контроля - 29 с [26; 30],  $p=0,02$ ), уменьшение фибринолитической активности плазмы крови до 9% [8; 15] (группа контроля - 15% [8; 22],  $p=0,001$ ), а также уменьшение индекса фибринолиза до 0,4 [0,3; 0,6] (группа контроля - 0,7 [0,4; 1,2],  $p=0,0001$ ). Указанные изменения отмечались на фоне увеличения уровня D-димера. Концентрация D-димера превышала 3 мг/мл у 14 из 62 больных.

Выявленные изменения свидетельствуют об активации гемостаза при ишемическом инсульте (повышение D-димера, фибриногена), проходящей на фоне снижения активности фибринолиза. Удлинение АЧТВ, ПТВр, а также уменьшение ПТИ может быть связано с повышенным потреблением протромбина.

Кроме того, у больных с ишемическим инсультом отмечался более высокий уровень антигена к фактору фон Виллебранда в плазме крови 160 [120; 190] (в группе контроля - 120% [84; 150],  $p=0,0002$ ), что может свидетельствовать о прокоагулянтной активности эндотелия, т.е. нарушении функции сосудистой стенки.

При анализе изменений показателей различными подтипами ишемического инсульта (табл. 3.4.1.) их общая направленность соответствовала данным, полученным в среднем по группе, характеризующим процессы гемостатической активации у пациентов в острейшем периоде ишемического инсульта.

Таблица 3.4.1. Основные показатели гемостаза при различных подтипах инсульта

Показатель гемостаза	Подтип инсульта		
	Атеротромботический инсульт	Кардиогенный эмболический инсульт	Лакунарный инсульт
ФГ, г/л	4,18 [3,65; 5,01]	4,34 [3,82; 5,19]	3,73 [3,20; 4,60]
МНО	1,07 [0,99; 1,22]	1,26 [1,04; 1,55]	1,13 [1,07; 1,2]
АЧТВ, с	28,3 [26,1; 31,5]	30,0 [27,4; 32,7]	27,6 [25,7; 30,8]
ПТИ, %с	84,5 [68,1; 90,1]	60,9 [48,6; 80,4]	71,2 [66,1; 79,2]
ИФ	0,3 [0,2; 0,4]	0,5 [0,4; 0,6]	0,4 [0,3; 0,8]
ПТВр, с	12,7 [11,9; 14,0]	16,3 [12,4; 18,4]	13,6 [12,8; 14,3]

Концентрация фибриногена была наибольшей у больных с кардиогенным эмболическим инсультом (4,34 г/л [3,82; 5,19]), наименьшей – у пациентов с лакунарным инсультом (3,73 г/л [3,20; 4,60])  $p=0,01$ . Протромбиновый индекс у пациентов с атеротромботическим инсультом был достоверно выше по сравнению с пациентами с кардиогенным эмболическим и лакунарным подтипами инсульта ( $p=0,01$ ). В группе больных с кардиогенным эмболическим инсультом наблюдалось удлинение протромбинового времени до 16,3 с [12,4; 18,4] (в группе с атеротромботическим инсультом - 12,7 с [11,9; 14,0], с лакунарным инсультом 13,6 [12,8; 14,3],  $p=0,01$ ).

При анализе изменений антигена к фактору фон Виллебранда у пациентов с различными подтипами инсульта (табл. 3.4.2) общая направленность соответствовала данным, полученным в среднем по группе.

Таблица 3.4.2. Антиген к фактору фон Виллебранда при различных подтипах инсульта

Показатель	Подтип инсульта		
	Атеротромботический инсульт	Кардиогенный эмболический инсульт	Лакунарный инсульт
ффВ, %	150 [120; 184]	141 [133; 150]	253 [146; 361]

Уровень антигена к фактору фон Виллебранда при различных подтипах инсульта превышал значения этого показателя в контрольной группе. Уровень антигена к фактору фон Виллебранда при лакунарном инсульте (253% [146; 361] был достоверно выше его уровня при атеротромботическом (150% [120; 184],  $p=0,001$ ) и кардиогенном эмболическом инсульте (141% [133; 150],  $p=0,001$ ).

Таким образом, в острейшем периоде ишемического инсульта вне зависимости от его патогенетического подтипа имеет место дисфункция эндотелия.

В группах больных с различными подтипами инсульта отмечалось повышение фибриногена на всем протяжении острого периода. Показатели фибринолиза были низкими.

Таблица 3.4.3. Динамика основных показателей гемостаза при различных подтипах инсульта инсульта

	Атеротромботический			Кардиогенный эмболический			Лакунарный		
	48 ч	7 сут	21 сут	48 ч	7 сут	21 сут	48 ч	7 сут	21 сут
ФГ, г/л	4,18 [3,65; 5,01]	4,2 [3,7; 5,0]	3,8 [3,6; 4,9]	4,34 [3,82; 5,19]	4,46 [3,6; 5,8]	5,2 [4,7; 5,9]	3,73 [3,20; 4,60]	3,8 [3,2; 4,6]	5,2 [4,7; 5,8]
МНО	1,07 [0,99; 1,22]	1,0 [1,0; 1,2]	1,4 [1,0; 1,3]	1,26 [1,04; 1,55]	1,2 [1,1; 1,8]	1,5 [1,2; 1,8]	1,13 [1,07; 1,2]	1,2 [1,2; 1,3]	1,4 [1,1; 1,7]
АЧТВ, с	28,3 [26,1; 31,5]	29,4 [26,5; 32,3]	29,0 [25,6; 32,5]	30,0 [27,4; 32,7]	27,7 [26,3; 31,5]	29,2 [26,2; 31,4]	27,6 [25,7; 30,8]	28,1 [26,6; 28,9]	27,1 [25,8; 28,0]
ПТИ,	84,5 [68,1; 90,1]	77,9 [64,9; 88,3]	78,5 [57,6; 84,8]	60,9 [48,6; 80,4]	61,8 [740,0; 70,3]	52,1 [39,5; 59,3]	71,2 [66,1; 79,2]	69,5 [66,1; 71,7]	59,2 [40,0; 79,0]
ИФ	0,3 [0,2; 0,4]	0,2 [0,2; 0,5]	0,4 [0,3; 0,5]	0,5 [0,4; 0,6]	0,4 [0,2; 0,5]	0,4 [0,3; 0,5]	0,4 [0,3; 0,8]	0,6 [0,3; 0,7]	0,4 [0,3; 1]
ПТВр, с	12,7 [11,9; 14,0]	13,2 [12,2; 14,2]	13,4 [12,1; 15,8]	16,3 [12,4; 18,4]	14,8 [13,3; 14,7]	17,1 [14,0; 20,7]	13,6 [12,8; 14,3]	14,1 [13,9; 14,7]	17,1 [12,8; 20,8]

Таким образом, в динамике ишемического инсульта выявлены сходные по направленности показатели гемостаза, характеризующиеся стойким и продолжительным гиперкоагуляционным состоянием.

Таблица 3.4.4. Сравнение критерием Уилкоксона.

#### Атеротромботический инсульт

	коагулограмма ПТИ 21 сут- 1-2 сут	коагулограмма МНО 21 сут – 1-2 сут
Z	-2,548 <sup>a</sup>	-2,373 <sup>b</sup>
Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,011	0,018

#### Кардиогенный инсульт

	коагулограмма фибриноген 21 сут-1-2 сут
Z	-2,023 <sup>b</sup>

Асимпт. знч. (двухсторонняя)	0,043
---------------------------------	-------

В динамике острого периода (первые 48 ч - 21 сут) при атеротромботическом инсульте отмечено снижение протромбинового индекса и повышение МНО, что свидетельствует об уменьшении гемостатической активации. При кардиогенном эмболическом инсульте –повышение фибриногена, что, напротив свидетельствует об активации гемостаза.

У больных с атеротромботическим инсультом уровень фактора фон Виллебранда в первые 48 ч составил 150 [120; 184]. К 21 сут отмечалось некоторое уменьшение уровня его до 141% [132; 150].

У больных с кардиогенным эмболическим инсультом отмечалось постепенное повышение фактора фон Виллебранда: при поступлении уровень его составил 141 [133; 150], к концу острого периода - вырос до 179% [153;196]. Динамика этого показателя свидетельствует о стойкой гемостатической активации и нарушении функции эндотелия у пациентов этой группы в течение острого периода инсульта.

Пациенты с лакунарным инсультом в начале острого периода имели самый высокий уровень антигена к фактору Виллебранда 253 [146; 361]. К 21 сут уровень его уменьшился и составил 151% [105; 194] ( $p=0,001$ ), что отражает уменьшение прокоагулянтной активности сосудистой стенки.

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о значительно выраженной диссоциации между активацией гемостаза, снижением фибринолиза и нарушением функции эндотелия при всех подтипах инсульта.

## ГЛАВА 4. Обсуждение

Исследования роли иммунной системы в патогенезе нарушений мозгового кровообращения, как известно, имеют более чем полувековую историю. Изучение роли иммунологической реактивности при локальной ишемии мозга было положено серией экспериментальных работ, выполненных в лаборатории и под руководством академика РАМН И.В.Ганнушкиной [2,6,8]. Полученные данные позволили установить влияние исходного иммунного статуса на характер изменения ткани мозга при его ишемии. Последующие работы, обобщающие данные экспериментальных и некоторых клинических исследований [10, 13, 34], позволили сформулировать концепцию, согласно которой развитие ишемического инсульта сопровождается сложным ответом нейроиммуноэндокринной системы. Каскад взаимосвязанных быстрых и отсроченных реакций при ишемии мозга представляет собой ответ единой стресс-реализующей системы, важным и необходимым компонентом которой являются иммунокомпетентные клетки и гуморальные факторы. Так, в частности, избыточный синтез провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$ , наряду с кортиколиберином, играют ключевую роль в развитии стресс-реализующего процесса. К настоящему времени наиболее изучено, хотя далеко не полно, влияние гуморальных факторов (цитокинов, аутоантител к нейроспецифическим белкам, а также трофических факторов) на формирование ишемии мозга и последующее течение репаративных процессов. Высказано предположение о том, что и артериальная гипертония (АГ) с длительным течением и повторными гипертоническими церебральными кризами в анамнезе также сопровождается продукцией аутоантител различной специфичности и формированием «предуготованности» нервной ткани к развитию инфарктов. Однако по замечанию Е.И. Гусева и В.И. Скворцовой (2003), экстраполировать данные экспериментальных исследований на понимание клеточных механизмов ишемии при инсульте у человека следует с известной осторожностью.

Несмотря на большое число работ по обозначенной проблеме, до сих пор мало клинических исследований с комплексной оценкой факторов клеточного и гуморального иммунитета и динамики показателей иммунного статуса у больных в остром периоде ишемического инсульта [13]. В литературе отсутствуют данные об изменении фенотипического состава иммунокомпетентных клеток периферической крови, как при ишемическом инсульте, так и у больных АГ. Остается открытым вопрос о возможности и условиях формирования у части больных, перенесших ишемический инсульт, вторичных иммунодефицитных состояний, хотя принципиальная вероятность их развития показана патофизиологами на экспериментальных моделях [9, 14].

Из всего сказанного следует актуальность исследований показателей иммунного статуса у больных в остром периоде ишемического инсульта.

Проведенное исследование позволило на клиническом материале впервые обнаружить и изучить характер изменений клеточного звена иммунной системы и некоторых показателей гуморального иммунитета у больных в остром периоде ишемического инсульта, а также у больных артериальной гипертонией. Описан гетерогенный характер этих изменений у больных АГ, а также большая степень выраженности и особенности иммунного статуса у больных в острейшем периоде ишемического инсульта [150].

Выявленные изменения иммунной системы у больных АГ следует рассматривать как результат хронической активации нейроиммуноэндокринной стресс-реализирующей системы. Роль эмоциональных стрессоров при гипертонической болезни признается давно (Г.Ф. Ланг, 1950). К настоящему времени доказана необходимость совместного участия стимуляции эмоциогенных центров и активации секреции надпочечниками катехоламинов и глюкокортикоидов для развития АГ. При этом, по данным М. Г. Пшенниковой (2001), стимуляция эмоциогенных центров связывается с развитием транзиторной фазы АГ, включение же гормонов надпочечников связано с усилением тонического влияния на сосудосуживающие центры продолговатого

мозга и переходом в стадию устойчивой АГ [34]. Важную роль в стрессорном повышении АД отводят генетической предрасположенности. Ярким примером этого является линия крыс с наследственной спонтанной гипертонией (линия SHR). Выявленные нами изменения иммунореактивности в группе больных АГ, вероятно, отражают активирующее влияние на иммунную систему гуморальных факторов симпатической системы. Однако, у отдельных больных, даже в этой группе, вследствие более тяжелых или длительных стрессорных воздействий, возможно развитие иммунодефицитных эпизодов.

Выявленные нами изменения иммунной системы у больных в остром периоде ишемического инсульта являются примером нейроиммунного взаимодействия в ответ на острое стрессорное воздействие. Как уже упоминалось выше, согласно современным представлениям, развитие церебральной ишемии сопровождается комплексом взаимосвязанных реактивных процессов в нейроиммуноэндокринной системе. Обнаруженная нами в острейшей стадии ишемического инсульта реакция клеток крови с лимфопенией на фоне повышения лейкоцитов крови, описана в виде типичного ответа иммунной системы при экспериментальных стрессорных воздействиях [27]. Установлен и механизм развития этой реакции, связанный с активацией гипоталамо-гипофизарно- кортико-адреналовой системы, сопровождающейся усиленной миграцией лимфоидных клеток в костный мозг, что увеличивает его иммунокомпетентность, что создает состояние повышенной «готовности» к иммунному ответу и участию в регуляции процессов регенерации. В экспериментальных работах показано также изменение при стрессе активности НК клеток, осуществляющих контроль антигенного гомеостаза, а также изменение отношения субпопуляций Т хелперов/ Т супрессоров. В настоящей статье нет возможности останавливаться более подробно на сложной и все еще мало изученной проблеме нейроиммунных взаимодействий при различных видах патологии. На сегодняшний день важно признать факт, что тяжелые и длительные стресс-реакции сопряжены с возможностью угнетения иммунной

системы вплоть до развития иммуно-дефицитного состояния. С другой стороны, предполагается также, что длительные стрессорные воздействия могут приводить к «поломкам» и дисрегуляции в иммунной системе, способствуя развитию или обострению течения иммунопатологических процессов.

Наконец, в свете исследований последних лет, можно предположить еще один механизм вовлечения иммунной системы в патологический процесс при ишемическом инсульте, связанный с системой Toll-подобных рецепторов (TLR). Рецепторы этого типа представлены преимущественно на клетках, относящихся к системе врожденного иммунитета. Их активация инициирует секрецию провоспалительных цитокинов [28]. Было установлено, что неметилированные фрагменты ДНК плазмы, обогащенные CpG динуклеотидами, могут оказывать стимулирующие эффекты на иммунные клетки. В единичных экспериментальных работах [6, 7, 22, 34] получены данные о влиянии эндогенной ДНК на активность TLR 9 типа. В этой связи представляют большой интерес опубликованные И.В.Ганнушкиной в 2005 году данные [8], о том, что короткие фрагменты ДНК, включая даже олигонуклеосомы, обнаруживаются в 100% случаев при тяжелом течении инсульта или появлении соматических осложнений в остром периоде инсульта. Исходя из приведенных данных, можно высказать гипотезу о возможности вовлечения иммунной системы в патогенез острых НМК, связанного с действием компонентов плазменной ДНК на TLR 9 типа клеток иммунной системы. Исследования TLRs и их эндогенных лигандов стало источником дополнений и пересмотра прежних представлений о патогенезе атеросклероза [43,45,52]. Получены некоторые данные, свидетельствующие об иницирующей роли воспаления в развитии атеросклеротического процесса. В качестве экзо- и эндогенных лигандов, иницирующих атеросклеротическое воспаление, рассматриваются хламидийная и *E. coli* инфекции; в качестве аутоантигенов могут выступать также белки теплового шока.

Таким образом, данные проведенного исследования свидетельствуют о вовлечении иммунной системы в сложный комплекс нейроиммуноэндокринных реакций, участвующих в ишемии мозга, и реализующихся посредством различных механизмов.

Благодаря мультидисциплинарным исследованиям определена роль ряда молекулярных, клеточных, биохимических, иммунологических, реологических факторов возникновения и прогрессирования изменений артерий, характерных для атеросклероза, артериальной гипертензии, сахарного диабета. Особое значение в развитии этих заболеваний принадлежит структурным компонентам сосудистой стенки и, прежде всего, эндотелию, а также клеткам крови [42,75].

Существенная роль в иммунном ответе, а также в процессах, связанных с нарушением функции эндотелия, отводится в настоящее время факторам межклеточного взаимодействия. Факторы межклеточного взаимодействия представляют собой белки, связанные с базальной мембраной. Они обеспечивают взаимодействие эндотелиоцитов и клеток крови, участвуют в реакциях связывания активированных лейкоцитов, вызывая их роллинг («прокатывание» по эндотелию) и проникновение через сосудистую стенку в окружающие ткани. Под влиянием факторов межклеточного взаимодействия происходит усиление процессов адгезии, гиперагрегации клеток крови, нарушение микроциркуляции. В этих условиях противовоспалительные цитокины (фактор некроза опухолей -TNF $\alpha$ , интерлейкины - IL-1, IL-6, IL-8), регулируя синтез белков адгезии, обеспечивают сохранение целостности эндотелиоцитов [1,37,54].

Во многих исследованиях отмечается роль воспаления в патогенезе атеросклероза, в том числе атеросклероза артерий головного мозга. Воспалительный процесс при атеросклерозе имеет черты иммунного воспаления, т.е. отмечается преобладание в воспалительных инфильтратах лимфоцитов и моноцитов – макрофагов, миграция которых в области накопления липидов рассматривается в качестве необходимого условия

атерогенеза. Нарушение целостности и проницаемости эндотелия артерий лежит в основе формирования атеросклеротических бляшек, т.к. ведет к проникновению во внутреннюю оболочку артерий различных компонентов плазмы крови, в первую очередь холестерина. Это стимулирует пролиферацию миоцитов, клеток соединительной ткани, вызывает утолщение внутренней оболочки артерий. Вследствие повреждения эндотелия уменьшается продукция простациклина, развивается адгезия тромбоцитов с высвобождением ими тромбоксана А<sub>2</sub> и других веществ, способствующих формированию пристеночных тромбов.

В последние годы большое внимание уделяют роли хронического воспаления в процессе формирования и дестабилизации атеросклеротических бляшек. Полагают, что под влиянием факторов адгезии ЕСАМ-1, ICAM-1, VCAM-1 нарастает дисфункция эндотелия, что ведет к развитию воспалительного процесса в сосудистой стенке, инфильтрации ее лейкоцитами, сопровождается активацией процесса синтеза вновь образованных сосудов и повышает риск кровоизлияния в атеросклеротическую бляшку [99].

Рядом исследователей показано, что высокая экспрессия ICAM-1 при сердечно-сосудистых заболеваниях коррелирует с факторами риска их развития – артериальной гипертонией, гиперлипидемией, курением и маркерами дисфункции эндотелия – повышением содержания С-реактивного белка, фибриногена. Высокий уровень ICAM-1 при ишемическом инсульте связан с большим объемом инфаркта головного мозга и тяжелой степенью неврологических нарушений [93,100]. Имеются данные о повышении риска развития инсульта у больных с высоким уровнем Р-селектина [36]. Обнаружено повышение Е-селектина при ишемическом инсульте, обусловленном атеростенозом артерий головного мозга [98]. Рядом авторов установлено, что высокий уровень sVCAM-1 является признаком тяжелого течения ишемической болезни сердца [115]. В проведенных исследованиях показано, что атеростеноз внутренней сонной артерии различной степени тяжести протекает в условиях

повышенной экспрессии маркеров дисфункции эндотелия (ICAM-1, P-селектина, PECAM-1) и активации гемостаза [23]. В последние годы получены данные о высокой прогностической значимости маркера активации тромбоцитов - sCD40. Было показано, что с высоким уровнем sCD40 связано развитие инфаркта миокарда, ишемического инсульта и летального исхода [47,99]. Появились данные, свидетельствующие о повышении уровня sCD40L в крови больных с сахарным диабетом. Гипогликемическая терапия у этих больных приводит к снижению уровня sCD40L [3]. Выявлено, что статины, блокируя ГМК-КоА-редуктазу, вызывают снижение экспрессии факторов адгезии (P-селектина, VCAM-1, ICAM-1), изменяя течение процесса иммунного воспаления при атеросклерозе и сахарном диабете. [47,94,111]

Рядом экспериментальных работ показано, что антитела к ICAM-1 предотвращают активацию лейкоцитов и микроциркуляторные нарушения, улучшая исход фокальной ишемии мозга. Установлено, что введение мышам с сахарным диабетом антител к молекулам адгезии ICAM-1 и b2-интегрину не вызывает развития диабетической ретинопатии [15]. Доказано, что у мышей с повышенным риском развития атеросклероза при дефиците ICAM-1 и P-селектина, вызванном введением моноклональных антител к VCAM-1, тромбоз не развивается. Возможно, что вещества, способные блокировать факторы межклеточного взаимодействия и миграцию моноцитов в стенку артерий, имеют большое значение в разработке подходов к лечению нарушений мозгового кровообращения [115].

Роль воспаления в развитии ишемии мозга подтверждена результатами многочисленных исследований. Показано, что при ишемии мозга фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкин- $1\beta$  высвобождаются из нейронов, что вызывает появление E-селектина на эндотелиоцитах. E-селектин способствует миграции массивного пула лейкоцитов в область ишемии.

Ранняя стадия воспаления, которая начинается через несколько часов после развития ишемии, характеризуется адгезией лейкоцитов к эндотелию,

благодаря их взаимодействию с молекулами межклеточной адгезии. Таким образом, лейкоциты прилипают к эндотелию и мигрируют из крови в ткань мозга.

Молекулы межклеточной адгезии ICAM-I и VCAM-1, облегчают взаимодействие между эндотелием и лейкоцитами в качестве первого этапа миграции лейкоцитов из крови в ткань мозга. Они взаимодействуют с  $\beta$ -интегринами, которые в свою очередь экспрессируются на лейкоцитах. Лейкоциты аккумулируются в капиллярах и затрудняют микроциркуляцию в области ишемии. Блокирование этого взаимодействия посредством антител CD18, CD11 или ICAM-I уменьшает не только количество лейкоцитов, но и объем инфаркта головного мозга.

Нарушение функции эндотелия при ишемии мозга запускает каскад гуморальных (цитокины, факторы роста) и клеточных (адгезия, агрегация) реакций. Сложно взаимодействуя между собой, эти реакции ведут к прогрессированию заболевания. Каждая стадия иммунного воспаления имеет свои маркеры. Таковыми являются молекулы адгезии, цитокины с воспалительной и противовоспалительной активностью, факторы роста, маркеры системного воспаления (С-реактивный белок и фибриноген), белки системы комплемента, тромбин, белки теплового шока.

Понимание важной роли иммунного воспаления при инсульте позволит разработать терапевтические стратегии профилактики прогрессирования заболевания: как усиление естественных противовоспалительных реакций, так и селективное и неселективное ингибирование развивающегося воспалительного процесса.

Задачей работы явилось исследование содержания растворимых молекул адгезии у больных с ишемическим инсультом.

Проведенное исследование позволило на клиническом материале изучить характер изменений маркеров иммунного воспаления у больных в остром периоде ишемического инсульта.

Данные нашего исследования согласуются с работами, в которых обсуждается роль иммунного воспаления в развитии ишемического инсульта [36,98,100,115].

Однако аспекты взаимосвязи тяжести ишемического инсульта с содержанием молекул межклеточного взаимодействия до сих пор остаются мало изученными. Как следует из полученных данных, повышение экспрессии sICAM-I, sPECAM-I, sP-selectin, sE-selectin, sICAM-3, sVCAM-1 у больных в острейшем периоде ишемического инсульта указывает на их важную роль в качестве иммунологических маркеров нарушения функции эндотелия. Выявлено, что увеличение содержания молекул адгезии в сыворотке крови больных с ишемическим инсультом сочеталось с тяжелым течением инсульта и предшествовало, в некоторых случаях, летальному исходу, а снижение уровня молекул адгезии к 21 сут ишемического инсульта коррелировало с положительной динамикой неврологических нарушений [150]. При среднетяжелом течении ишемического инсульта, осложненном сахарным диабетом, установлена гиперпродукция всех исследованных молекул адгезии, по сравнению с их содержанием у больных с тяжелым течением инсульта. Выявлено, что сахарный диабет способствует активации гемостаза и может быть предиктором последующих тромботических осложнений [18,44,83,89]. В настоящее время изучается влияние гипогликемической терапии на содержание маркеров межклеточной адгезии и улучшение регионального мозгового кровотока [46,153,150].

## ВЫВОДЫ

1. Начало острого периода ишемического инсульта характеризуется повышением уровней факторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови. Снижение уровней молекул адгезии к 21 сут ишемического инсульта коррелирует с положительной динамикой неврологических нарушений. Высокие уровни молекул адгезии наблюдаются при тяжелом течении ишемического инсульта, в некоторых случаях, с летальным исходом.
2. При среднетяжелом течении ишемического инсульта, осложненном сахарным диабетом, обнаружена максимальная экспрессия молекул адгезии не только относительно контроля, но и по сравнению с их содержанием в группе больных с тяжелым течением инсульта.
3. Общая картина изменений иммунного статуса у больных в острейшем периоде ишемического инсульта (1-2 сут), представлена сочетанием признаков дизрегуляции и иммунодефицита клеточного и гуморального звеньев иммунитета, лейкоцитозом с лимфопенией. Картина изменений фенотипического состава лимфоцитов характеризуется дефицитом популяций CD3+, CD4+, CD8+ клеток. У 33% больных выявлено снижение содержания IgG, что можно расценивать как проявление иммунодефицитного состояния гуморального звена иммунитета.
4. В 7 и 21 сут ишемического инсульта отмечена положительная динамика с повышением содержания лимфоцитов крови и количества CD4+ клеток. У части больных это сопровождается повышением показателя регуляторного индекса, представляющего отношение процентного содержания субпопуляций фенотипов клеток CD4+/CD8+. Однако у 70% больных сохраняются признаки иммунодефицита в виде снижения числа CD8+ и показателя регуляторного индекса.
5. Уровень экспрессии активационных маркеров лимфоцитов (CD25+, CD95+, CD45R0+/R0, T-НК, HLA-DR +) в разные сроки острого периода

ишемического инсульта является высоким. К 21 сут инсульта выявлено снижение содержания Т-НК и CD95 + клеток.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Оценка показателей клеточного и гуморального звена иммунитета в остром периоде инсульта позволяет прогнозировать осложнения, связанные, как с иммунной недостаточностью, так и аутоиммунными проявлениями и оптимизировать лечебные и профилактические мероприятия.

Выявление высоких уровней факторов межклеточного взаимодействия может быть дополнительным лабораторным критерием тяжелого течения инсульта.

Результаты работы могут быть использованы для разработки новых подходов к терапии острых НМК, в частности обоснованного применения методов иммунокоррекции.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александров А.В., Джексон А.М., Румянцев А.Г. Анализ механизма модуляции межклеточных молекул адгезии ICAM // Иммунология 1997; 1: 4-10.
2. Байракова А.Л., Варопаева Е.А., Афанасьев С.С. и др. Роль и биологическое значение ТОЛЛ-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма // Вестник Российской АМН 2008; 1: 45-54.
3. Барбараш О.Л., Осокина А.В. Роль маркеров системы CD40/CD40L в прогнозировании сердечно-сосудистых событий при коронарном атеросклерозе // Патология кровообращения и кардиология 2011; 3: 89-93.
4. Болдырев А. А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга / Болдырев А. А. // Биохимия. — 1995. — Т. 60. — № 9. — С. 32-44.
5. Варакин Ю. Я. Эпидемиология сосудистых заболеваний головного мозга: / Очерки ангионеврологии (под ред. чл.-корр. Суслиной З.А.): сб. — М.: Атмосфера, 2005. С. 66-76.
6. Владимиров В.Г., Васильева И.Н., Шарова Л.А. Внеклеточная ДНК и ее значение для современной медицины // Клин. медицина и патофизиология. 1998; 1-2: 110-119.
7. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение. Под ред. С.В. Хайдукова. А.В. Зурочки. – Челябинск, 2008.- С. 195.
8. Ганнушкина И.В. Аспекты дисрегуляции в патогенезе нарушений мозгового кровообращения // Дисрегуляторная патология / Под ред. Крыжановского Г.Н. М.: Медицина, 2002. - С. 260-293.
9. Ганнушкина И.В. Патофизиология нарушений мозгового кровообращения //Очерки ангионеврологии / Под ред. Суслиной З.А. М. Изд-во «Атмосфера». 2005. - С. 18-40.
10. Ганнушкина И.В., Антелава А.Л., Вейко Н.Н. Гидродинамическая (не генетическая) эффективность разных форм ДНК // Патол. Физиол. и экспер. терапия. 2000; 4: 3-5.

11. Гомазков О. Н. Уровни химической регуляторной дезинтеграции при ишемической патологии мозга / Гомазков О. Н. // Дизрегуляторная патология нервной системы / Под. ред. Гусева Е. И., Крыжановского Г. Н. — М.: Медицина, 2009. — С. 423-461.
12. Гусев Е.И. Проблемы инсульта в России // Журнал неврологии и психиатрии. — 2003. — № 9 (Инсульт). — С. 3-5.
13. Гусев Е.И. Основные механизмы острой церебральной ишемии. Мозг: теоретические и клинические аспекты - М.: Медицина, 2003.- С. 139- 157.
14. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Клеточные реакции, связанные с острой фокальной ишемией мозга // Ишемия головного мозга. М. «Медицина» 2001. С. 27-33.
15. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина 2001. – С. 245-249.
16. Ефремова Н. М. Изучение содержания белка 8100p и первичных и вторичных антител к нему у больных с острой церебральной ишемией в зависимости от патогенетических вариантов инсульта / Ефремова Н. М. [и др.] // Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. — СПб., 2000. — 294 с.
17. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Роль интерлейкина 1- $\alpha$  в патогенезе острого периода ишемического инсульта //Неврологический вестник. - 2005. - Т. XXXVII. – №1-2. - С. 18-21
18. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 27–30
19. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика / Под ред. Суслиной З. А., Пирадова М. А. М.: МЕД пресс-информ, 2008. 288 с.
20. Искандарова Л.Р., Муталова Э.Г., Смакаева Э.Р., Мингазетдинова Л.Н., Сахаутдинова Г.М. Молекулы адгезии и клеточно–цитокиновый комплекс в ремоделировании сосудов при артериальной гипертензии с метаболическими факторами риска // Рос. кардиол. журн. 2008; 5:14-20.

21. Камчатнов, П. Р. Чугунов А. В. с соавт. Аутоантитела к глиальному фибриллярному кислом белку у больных с различными формами цереброваскулярной патологии // Журн. неврол. и психиатр. — 2008. — Т. 108. — №11. — С. 58-61.
22. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Методы оценки иммунного статуса // Иммунология для врача / СПб. - 1998. - С.108-154.
23. Комелькова Л.В., Ионова В.Г. Молекулы адгезии и тромбоцитарно-сосудистый гемостаз у больных со стенозами внутренней сонной артерии атеросклеротического генеза // Научно- практич. журн. «Тромбоз, гемостаз и реология» 2011;1: 53-60.
24. Конорова И.Л., Комелькова Л.В., Вейко Н.Н., Жирнова И.Г., Ганнушкина И.В. Иммуностимулирующее действие транскрибируемой области рибосомных повторов ДНК, циркулирующей в плазме/сыворотке крови больных с нарушениями мозгового кровообращения. 16 Всероссийская конф. «Нейроиммунология», «нейроимидж» и научно - практическая конф. неврологов. СПб. 2007.
25. Костюк С. В. Фрагменты рибосомных генов человека в составе внеклеточной ДНК – факторы стресс-сигнализации // Автореферат дис. ...канд. мед. наук - М. 2007.
26. Костюк С.В., Алексеева А.Ю., Конькова М.С., Смирнова Т.Д., Ермаков А.В., Ефремова Л.В., Конорова И.Л., Вейко Н.Н. Внеклеточная ДНК влияет на функциональную активность клеток эндотелия // Медицинская генетика 2010; 1: 38- 46.
27. Костюк .В., Смирнова Т.Д., Ефремова Л.В., Конькова М.С., Алексеева А.Ю., Каменева Л.В., Вейко Н.Н. Увеличение экспрессии INOS в эндотелиальных клетках человека при длительном культивировании с фрагментами внеклеточной ДНК // Бюлл. exper. биол. мед. 2010: 149(2); 151-155.
28. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология - М. 2002. - 96 с.

29. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В., Сепиашвили Р. И. Нейроиммунопатология. Руководство. - М. 2003. - С. 282.
30. Пальцев М.А., Кветной М.И. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. - М.: Медицина 2008. – С. 497-499.
31. Пальцев М. А., А. Б. Полетаев, С. В. Сучков Аутоиммунитет и аутоиммунный синдром: границы нормы и патологии//Вестник РАМН. — 2010. —№ 8. — С. 1-2.
32. Полосухина Е.Р., Заботина Т.Н., Шишкин Ю.В., Кадагидзе З.Г., Барышников А.Ю. Получение и характеристика моноклональных антител ICO-160 против антигена CD95 (Fas/APO1), опосредующего апоптоз // Бюлл. эксп. биол. мед. – 1998; 125(6): 670-673.
33. Пшенникова М.Г. Лекция 5. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. Актуальные проблемы патофизиологии: Избранные лекции /Под ред. Б.Б. Мороза. – М.: Медицина, 2001. – С. 220-353.
34. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. Пер. с англ. М. Изд-во «Мир» 2006. – 315 с.
35. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / Издательство Медиа Сфера. - М. 2003.- 305 с.
36. Рулева Н.Ю., Люкова Т.К., Гусев Е.И., Мартынов М. Ю., Кузин В.М., Камчатнов П.Р., Чугунов А.В., Дугин С.В. Маркеры воспаления, аутоантитела к нейроспецифическим антигенам и характер исхода у больных с острым ишемическим инсультом // Журн. неврол. и психиат. Инсульт 2004; 12: 60-65.
37. Скворцова В.И., Боцина А.Ю., Кольцова К.В., Платонова И.А., Почигаева К.И., Соколов К.В., Творогова Т.В. Артериальная гипертензия и головной мозг. Журн. неврол. и психиат. 2005; 2-5.
38. Скворцова В. И. Клинико-иммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического

- инсульта / Скворцова В. И. [и др.] // Журн. неврол. и психиатр. — 1999. — Т. 99. — № 5. — С. 27-31.
39. Скворцова В. И., Шерстнев В. В., Грудень М. А. и др. Роль аутоиммунных процессов в повреждающем действии церебральной ишемии // Журн. неврол. и психиатр. (прил. Инсульт). — 2001. — С. 46-54.
40. Суслина З.А. Сосудистые заболевания головного мозга в России: достижения и нерешенные вопросы // Труды I Национального конгресса «Кардионеврология» /ИЦН РАМН. - М., декабрь 2008. - С. 7-10.
41. Суслина З.А., Варакин Ю.Я. Эпидемиологические аспекты изучения инсульта. Время подводить итоги //Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2007. - №2(1) - С. 22-28.
42. Суслина З.А., Танашян М.М., Ионова В.Г. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, атромботическая терапия. - М: Мед. книга 2005: 100 – 122.
43. Суслина З.А., Танашян М.М., Ионова В.Г. Концепция дисрегуляции гемостаза как универсального фактора патогенеза ишемического инсульта. Материалы IX всероссийского съезда неврологов 2006: 489.
44. Танашян М.М., Ладога О.В., Антонова К.В. Сосудистые заболевания головного мозга. Методические рекомендации М: 2011. – 24 с.
45. Хайдуков С.И. Многоцветный анализ в проточной цитометрии для медико-биологических исследований. Дисс... на соискание уч. степени доктора биол. наук - СПб. - 2008.
46. Чугунова Л.А., Камчатнов П.Р., Чугунов А.В., Шестакова М.В. Цереброваскулярные заболевания и сахарный диабет 2 типа // Журн. Сахарный диабет 2006; 1:34-39
47. Шевченко О.П., Природова О.Ф., Орлова О.И. CD40/CD40L лиганд у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа // Рос. кардиологический журнал 2006; 5: 23-28.

48. Adams H, Bendixen B, Kappelle J et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. *Stroke* 1993;24; 1:35-40.
49. Alvaro-González L.C., Frejjo-Guerrero M.M., Sádaba-Garay F. Inflammatory mechanisms, arteriosclerosis and ischemic stroke: clinical data and perspectives // *Rev Neurol.* 2002; Vol 35: P. 452-462.
50. Asahi M, Asahi K, Jung JC, del Zoppo GJ, Fini ME, Lo EH. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of genenockout and enzyme inhibition with BB-94. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000; 20: 1681-1689.
51. Barone F.C., Feurstein G.Z. Inflammatory mediators and stroke: new opportunities for novel therapeutics. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 8: 819834
52. Baryshnirov A. Yu., Polosukhina E. R., Zabolina T.N. et al. Fas (APO-1/CD95) Antigen: New Activation Marker for Avaluation of the Immune Status. *Russian J. Immunol.* 1997; Vol. 2 (2): P. 116-120.
53. Belniak-Legieć E., Stelmasiak Z.. Blood platelet activation markers in patients with acute cerebral infarction during the earliest stage of the disease--evaluation using flow cytometry methods // *Neurol Neurochir Pol.* 2000; Vol 34: P. 853-864.
54. Berezin V., Bock E., Poulsen F. M. The neural cell adhesion molecule. *Current Opinion Drug Discovery & Development* 2000; Vol. 3: 605-609.
55. Berlin, C., Berg, E.L., Briskin, M.J., et al. // *Cell.* 1993; Vol. 74: P. 185-195.
56. Bevilacqua M.P., Stengelin S., Gimbrone M.A., Seed B. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins // *Science.* 1989; Vol. 243: P. 1151-1160.

57. Bitsch A., Klene W., Murtada L. et al. A longitudinal prospective study of soluble adhesion molecules in acute stroke // *Stroke*. 1998; Vol. 29: P. 2129-2135.
58. Blann A.D., Miller J.P., McCollum C.N. Von Willebrand factor and soluble E-selectin in the prediction of cardiovascular disease progression in hyperlipidaemia // *Atherosclerosis*. 1997; Vol. 132: P. 151-156.
59. Brea D., Sobrino T., Ramos-Cabrer P. et al. Inflammatory and Neuroimmunomodulatory Changes in Acute Cerebral Ischemia // *Cerebrovasc Dis.* — 2009. — Vol. 27. — Suppl. 1. — P. 48-64.
60. Buttner T., Weyers S., Postert T. et al. S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction // *Stroke*. — 1997. — № 28. — P. 1961-1965.
61. Cassie S., Masterson M.F., Polukoshko A. et al. Ischemia/reperfusion induces the recruitment of leukocytes from whole blood under flow conditions // *Free Radic Biol Med*. 2004; Vol. 36: P. 1102-1111.
62. Castellanos M., Sobrino T., Millán M. et al. Serum cellular fibronectin and matrix metalloproteinase-9 as screening biomarkers for the prediction of parenchymal hematoma after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke: a multicenter confirmatory study // *Stroke*. - 2007. - №38(6). – P. 1855-1859.
63. Castillo J., Alvarez-Sabín J., Martínez-Vila E. et al. Inflammation markers and prediction of post-stroke vascular disease recurrence: the MITICO study // *J Neurol.* – 2009. - №256(2). – P. 217-224.
64. Castillo J., Rodriguez I. Biochemical Changes and inflammatory response as markers for brain ischaemia: molecular markers of diagnostic utility and prognosis in human clinical practice // *Cerebrovasc. Dis.* — 2004. — № 17. — Suppl. 1. — P. 7-18.
65. Cha J.K., Jo W.S., Shin H.C. et al. Increased platelet CD63 and P-selectin expression persist in atherosclerotic ischemic stroke // *Platelets*. 2004; Vol. 15: P.3-7.

66. Cherian P., Hankey G.J., Eikelboom J.W. et al. Endothelial and platelet activation in acute ischemic stroke and its etiological subtypes // *Stroke*. 2003; Vol. 34: P. 2132-2137.
67. Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A. et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders // *Blood*. 1998; Vol. 91: P. 3527-3561.
68. Clore G.M., Appella E., Yamada M., Matsushima K. Three-dimensional structure of interleukin 8 in solution // *Biochemistry*. – 1990. - №29. – P. 1689-1696.
69. Cohen I. R. Discrimination and dialogue in the immune system // *Semin. Immunol*. 2000. — № 12. — P. 215-219.
70. Connolly E.S., Winfree C.J., Prestigiacomo C.J. et al. Exacerbation of cerebral injury in mice that express the P-selectin gene: identification of P-selectin blockade as a new target for the treatment of stroke // *Circ Res*. 1997; Vol. 81: P. 304-310.
71. Cordeau P., Lalancette M. Inflammatory response in ischemic injury. 2008.
72. Danton G.H., Dietrich W.D. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. / *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003; Vol. 62: P. 127-136.
73. Del Zoppo G., Ginis I., Hallenbeck J.M. et al. Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and iNOS in brain response to ischemia // *Brain Pathol*. 2000; Vol. 10. P. 95-112.
74. Dustin M.L., Staunton D.E., Springer T.A. Supergene families meet in the immune system // *Immunol Today*. 1988; Vol. 9: P. 207-213
75. Fassbender K, Bertsch T, Mielke O. Adhesion molecules in cerebrovascular disease. Evidence for an inflammatory endothelial activation in cerebral large- and small-vessel disease // *Stroke* 1999a; Vol. 30: P. 1647-1650.
76. Fassbender K, Mössner R, Motsch L. et al. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion molecules in acute ischemic stroke // *Stroke* 1995; Vol. 26: P. 1361-1364.

77. Fassbender K., Bertsch T., Mielke O. et al. Adhesion molecules in cerebrovascular diseases. Evidence for an inflammatory endothelial activation in cerebral large- and small-vessel disease // *Stroke* 1999; Vol. 30; P. 1647-1650.
78. Frijns C.J., Kappelle L.J. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic cerebrovascular disease // *Stroke*. 2002; Vol. 33: P. 2115-2122.
79. Frijns C.J., Kappelle L.J., van Gijn J. et al. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis // *Stroke*. 1997; Vol. 28: P. 2214-2218.
80. Foerch C., Singer O. C., Neumann-Haefelin T. Evaluation of Serum S100B as a Surrogate Marker for Long-term Outcome and Infarct Volume in Acute Middle Cerebral Artery Infarction // *Arch. Neurol.* — 2005. — № 62. — P. 1130-1134.
81. Gallatin M., St John T.P., Siegleman M., et al. Lymphocyte homing receptors // *Cell*. 1986; Vol. 44: P. 665-673.
82. Gibson N.J. Cell adhesion molecules in context: CAM function depends on the neighborhood // *Cell. Adh. Migr.* — 2011. — Jan-Feb. — № 5(1). — P. 48-51.
83. Gorelick P.B. Stroke prevention therapy beyond antithrombotics: unifying mechanisms in ischemic stroke pathogenesis and implications for therapy: an invited review // *Stroke* 2002; Vol. 33(3): P. 862-875.
84. Haring H.P., Berg E.L., Tsurushita N. et al. E-selectin appears in nonischemic tissue during experimental focal cerebral ischemia // *Stroke* 1996; Vol. 27: P. 1386-1391; discussion 1391-1392.
85. He Q., Spiro M.J. Isolation of rat heart endothelial cells and pericytes, evaluation of their role in the formation of extracellular matrix components // *Mol Cell Cardiol.* — 1995. — №27. — P. 1173—1183.
86. Hedley C.A., Craig J.S., Carole M.G. et al. Clinical outcome following acute ischemic stroke relates to both activation and autoregulatory inhibition of cytokine production. *BMC Neurology* 2007.

87. Herrmann M., Ehrenreich H. Brain derived proteins as markers of acute stroke: their relation to pathophysiology, outcome prediction and neuroprotective drug monitoring // *Restor. Neurol. Neurosci.* — 2003. — № 21. — P. 177-190.
88. Herrmann M., Vos P., Wunderlich M. T. et al. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: a comparative analysis of serum concentrations of protein S- 100B and glial fibrillary acidic protein // *Stroke.* — 2000. — № 31: — P. 2670-2677.
89. Hoher B., Liefeldt L., Quaschnig T. Soluble CD154 is a unique predictor of nonfatal and fatal atherothrombotic events in patients who have end-stage renal disease and are on hemodialysis // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; Vol. 18(4): P. 1323–1330.
90. Hoffmeister H.M., Kozmaier S. Activation of inflammatory pathways in acute coronary syndromes // *Europ. Heart J.* 2000; Vol. 21: P. 650-656.
91. Huang J., Choudhri T.F., Winfree C.J., et al. Postischemic cerebrovascular E-selectin expression mediates tissue injury in murine stroke // *Stroke.* 2000; Vol. 31: P. 3047-3053.
92. Jauch E. C. et al. Association of Serial Biochemical Markers With Acute Ischemic Stroke // *Stroke.* — 2006. — № 37. — P. 2508-2513.
93. Jenny N.S., Arnold A.M., Kuller L.H. et al. Soluble intracellular adhesion molecule-1 is associated with cardiovascular disease risk and mortality in older adults // *J. Thromb. Haemost* 2006; Vol. 4 (1): P. 107-113.
94. Kang S., Wu Y., Li X. Effects of statin therapy on the progression of carotid atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis // *Atherosclerosis* 2004; Vol. 177: P. 433-442.
95. Kelli P.G., Ning M.M. Oxidant stress and MMP-9 in acute ischemic stroke. *Stroke* 2008; 3:24-26.
96. Kim J.S. Cytokines and adhesion molecules in stroke and related diseases // *J. Neurol. Sci.* 1996; Vol. 137: P. 69-78.

97. Kishimoto T.K., Larson R.S., Corbi A.L. et al. The leukocyte integrins // *Adv. Immunol.* 1989; Vol 46: P. 143-149.
98. Kozuka K., Kohriyama T., Nomura E. et al. Endothelial markers and adhesion molecules in acute ischemic stroke--sequential change and differences in stroke subtype // *Atherosclerosis* 2002; Vol. 161: P. 161-168.
99. Kozuka Kazuka, Kohriyama Tatsuo, Nomura Eiichi, Junko Ikeda, Hiroshi Kajikwa. Soluble P- and E- selectins in acuta ischemic stroke // *Stroke, Abstracts. From the 4th World Congress on Diabetes and Metabolism - 2001;* 2821.
100. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes // *Circulation* 1995; Vol. 91: P. 2844-2850.
101. Licata G., Tuttolomondo A., Raimondo DD. et al. Immuno-inflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in comparison with other subtypes of ischaemic stroke // *Thromb Haemost.* – 2009. - №101(5). – P. 929-937.
102. Lindsberg P.J., Carpén O., Paetau A., et al. Endothelial ICAM-1 expression associated with inflammatory cell response in human ischemic stroke // *Circulation.* 1996; Vol. 94: P. 939-945.
103. Lucivero V., Prontera M., Mezzapesa DM. et al. Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke // *Neurol Sci.* – 2007. - №28(4). – P. 165-170.
104. McCabe D.J., Harrison P., Mackie I.J. et al. Platelet degranulation and monocyte-platelet complex formation are increased in the acute and convalescent phases after ischaemic stroke or transient ischaemic attack // *Br. J. Haematol.* 2004; Vol. 125: P. 777-787.
105. Munro J.M., Pober J.S., Cotran R.S. Tumor necrosis factor and interferon-gamma induce distinct patterns of endothelial activation and associated leukocyte accumulation in skin of *Papio anubis* // *Am. J. Pathol.* 1989; Vol. 135: P.117-121.

106. Nakase T., Yamazaki T., Ogura N. et al. The impact of inflammation on the pathogenesis and prognosis of ischemic stroke // *J Neurol Sci.* - 2008. - №15; 271(1-2). – P. 104-109.
107. Nayak A .R., Kashyap R.S., Purohit H.J. et al. Evaluation of the inflammatory response in sera from acute ischemic stroke patient of IL-2 and IE-10. *Inflamm Res*, 2009; 58(10): 687-91.
108. Okada Y., Copeland B.R., Mori E., et al. P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 expression after focal brain ischemia and reperfusion // *Stroke*. 1994; Vol. 25: P. 202-211.
109. Osborne L. Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation // *Cell*. 1990; Vol. 62: P. 3-11.
110. Oto J., Suzue A., Inui D. et al. Plasma proinflammatory and anti-inflammatory cytokine and catecholamine concentrations as predictors of neurological outcome in acute stroke patients // *J Anesth* – 2008. - №22(3). – P. 207-212.
111. Ovbiagele B., Kidwell C.S., Saver J.L. Expanding Indications for Statins in Cerebral Ischemia. A Quantitative Study // *Arch. Neurol.* 2005; Vol. 62: P. 67-72.
112. Pasarica D., Gheorghiu M., Topârceanu F. et al. Neurotrophin-3, TNF-alpha and IL-6 relations in serum and cerebrospinal fluid of ischemic stroke patients // *Roum Arch Microbiol Immunol.* – 2005. - №64(1-4). – P. 27-33.
113. Perini F, Morra M, Alecci M et al. Temporal profile of serum anti-inflammatory and proinflammatory interleukins in acute ischemic stroke. *Neurol Sci* 2001;111:360-365.
114. Petzold A., Michel P., Stock M., Schlupe M. Glial and axonal body fluid biomarkers are related to infarct volume, severity, and outcome // *J Stroke Cerebrovasc Dis.* – 2008. - №17(4). – P. 196-203 [Abstract].
115. Pierangeli S.S., Espinola R.G., Liu X. Trombogenic effects of antiphospholipid antibodies are mediated by intercellular cell adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule- 1 and P-selectin // *Circ. Res.* 2001; Vol. 88: P. 245-250.

116. Poletaev A. B., Abrosimova A. A., Sokolov M. A. et al. Dialectics and implications of natural neurotropic autoantibodies in neurological disease and rehabilitation // *Clin. Dev. Immunol.* — 2004, — Jun. — №11(2).— P. 151-156.
117. Ramasamy I. Biochemical markers in acute coronary syndrome // *Clin. Chim. Acta.* 2011,—Jul. 15, — V. 412(15-16). — P. 1279-1296
118. Rao M. A., Dempsey R., Hatcher J. F. Integration of Cytokine Biology and Lipid Metabolism in Stroke *Frontiers in Bioscience* // 2008. — Jan. 1. — № 13. — P. 12501270.
119. Rodríguez-Yáñez M., Castillo J. Role of inflammatory markers in brain ischemia // *Curr Opin Neurol.* — 2008. - №21(3). — P. 353-357.
120. Rosell A., Cuadrado E., Ortega-Aznar A. et al. MMP-9-positive neutrophil infiltration is associated to blood-brain barrier breakdown and basal lamina type IV collagen degradation during hemorrhagic transformation after human ischemic stroke // *Stroke.* — 2008. - №39(4). — P. 1121-1126.
121. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease // *N. Engl. J. Med.* 1999; Vol. 340: P. 115-126.
122. Ruehl M.L., Orozco J.A., Stoker M.B. Protective effects of inhibiting both blood and vascular selectins after stroke and reperfusion // *Neurol. Res.* 2002; Vol. 24: P. 226-232.
123. Shyu K.G., Chang H., Lin C.C. Serum levels of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients with acute ischaemic stroke // *J. Neurol.* 1997; Vol. 244: P. 90-93.
124. Soriano S.G., Coxon A., Wang Y.F. et al. Mice deficient in Mac-1 (CD11b/CD18) are less susceptible to cerebral ischemia/reperfusion injury // *Stroke* 1999; Vol. 30: P. 134-139. Springer T.A. Adhesion receptors of the immune system // *Nature* 1990; Vol. 3: P. 346-425.
125. Spaggiari G.M., Contini P. et al. Soluble HLA class 1 molecules induce natural killer cell apoptosis through the engagement of CD8: evidence for a negative

- regulation exerted by members of the inhibitory receptor superfamily . *Blood*. 2002, 99(5):1706-14.
126. Stanimirovic D.B., Wong J., Shapiro A., Durkin J.P. Increase in surface expression of ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin in human cerebrovascular endothelial cells subjected to ischemia-like insults // *Acta Neurochir. Suppl.* (Wien) 1997; Vol. 70: P. 12-16.
  127. Stoll G., Jander S., Schroeter M. Inflammation and glial responses in ischemic brain lesions // *Prog. Neurobiol.* 1998; Vol. 56: P.149-171.
  128. Stoolman L.M. Adhesion molecules controlling lymphocyte migration // *Cell*. 1989; Vol. 56: P. 900-907.
  129. Suzuki H., Abe K., Tojo S. et al. A change of P-selectin immunoreactivity in rat brain after transient and permanent middle cerebral artery occlusion // *Neurol. Res.* 1998; Vol. 20: P. 463-469.
  130. The Stroke Progress Review Group (Stroke PRG) TOAST (Trial of Org. 10172 in Acute Stroke Treatment) // *JAMA*. — 1998. — № 279. — P. 1265-1272.
  131. Tuttolomondo A., Di Raimondo D. et al. Inflammatory cytokines in acute ischemic stroke // *Curr Pharm Des.* – 2008. - №14(33). – P. 3574-3589.
  132. Use of anti-ICAM-1 therapy in ischemic stroke: the results of the Enlimomab Acute Stroke Trial // *Neurology*. 2001; Vol. 57: P. 1428-1434.
  133. Vila N., Castillo J., Davalos A. et al. Levels of Anti-Inflammatory Cytokines and Neurological Worsening in Acute Ischemic Stroke. *Stroke* 2003; 34: 671-675.
  134. Vila N., Castillo J., Davalos A. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke // *Stroke*. - 2000. – №31. – P. 2325 – 2329.
  135. Vila N., Chamorro A., Castillo J., Dávalos A. Glutamate, Interleukin-6, and Early Clinical Worsening in Patients With Acute Stroke // *Stroke*. – 2001. - №32. – P. 1234-1237.

136. Wang K., Zhou X., Zhou Z., et al. Recombinant soluble P-selectin glycoprotein ligand-Ig (rPSGL-Ig) attenuates infarct size and myeloperoxidase activity in a canine model of ischemia-reperfusion // *Thromb Haemost.* 2002; Vol. 88: P. 149-154.
137. Wang X., Yue T.L., Barone F.C., Feuerstein G.Z. Demonstration of increased endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 mRNA expression in rat ischemic cortex // *Stroke* 1995; Vol. 26: P. 1665-1668; discussion 1668-1669.
138. Weber K.T., Sun Y., Katwa L.C. Local regulation of extracellular matrix structure // *Herz .* - 1995. - №20. – P.81-88.
139. Whiteley et al. Blood Markers for the Prognosis of Ischemic Stroke: A Systematic Review// *Stroke.* — 2009. — № 40. — P. e380-e389.
140. Yamazaki M., Uchiyama S., Iwata M. Measurement of platelet fibrinogen binding and p-selectin expression by flow cytometry in patients with cerebral infarction // *Thromb. Res.* 2001; Vol. 104: P. 197-205.
141. Zaremba J., Losy J. Early TNF-alpha levels correlate with ischaemic stroke severity // *Acta Neurol Scand.* – 2001. - №104(5). – P. 288-295.
142. Zaremba J., Losy J. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in patients with ischemic stroke // *Neurol Neurochir Pol.* – 2001. - №35(1). – P. 41-46.
143. Zaremba J., Skrobanski P., Losy J. Tumour necrosis factor-alpha is increased in the cerebrospinal fluid and serum of ischaemic stroke patients and correlates with the volume of evolving brain infarct // *Biomed Pharmacother.* – 2001. - №55(5). – P. 258-263.
144. Zhang R., Chopp M., Zhang Z. et al. The expression of P- and E-selectins in three models of middle cerebral artery occlusion // *Brain Res.* 1998; Vol. 785: P. 207-214.
145. Zhang R.L., Zhang Z.G., Chopp M., Zivin J.A. Thrombolysis with tissue plasminogen activator alters adhesion molecule expression in the ischemic rat brain // *Stroke* 1999; Vol. 30: P. 624-629.

146. Zaichik Ash., Churilov L. P., Utekhin V. J. Autoimmune regulation of genetically determined cell functions in health and disease // Pathophysiology. — 2008. — Oct. — №15(3). —Р. 191-207.

**Список работ опубликованных по теме диссертации:**

147. Жирнова И.Г., Комелькова Л.В., Максимова М.Ю., Охтова Ф.Р. Динамика молекул адгезии у больных с ишемическим инсультом. / Материалы съезда X Всероссийский съезд неврологов с международным участием. - Нижний Новгород. 2012г. – с.10
148. Комелькова И.Г., Максимова М.Ю., Ионова В.Г. Охтова Ф.Р. Иммунный статус у больных в остром периоде ишемического инсульта. // Аллергология и иммунология. Материалы XV11 международного конгресса по реабилитации в медицине и иммунологии. Нью-Йорк, США. - 2012г. - №13. – Т.1. - с.88-89.
149. Максимова М.Ю., Домашенко М.А., Ионова В.Г., Сыскина Е.Н., Охтова Ф.Р. Изменение показателей гемостаза в острейшем периоде кардиоэмболического инсульта. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2011г. - №3. - с.22-27
150. Максимова М.Ю., Комелькова Л.В., Охтова Ф.Р. Факторы межклеточного взаимодействия при ишемическом инсульте. // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2014. - №2. – с.15-19
151. Максимова М.Ю., Сыскина Е.Н., Сенектутова О.А., Охтова Ф.Р. Биохимические маркеры состояния ткани мозга при кардиоэмболическом инсульте. // Труды II Национального конгресса «Неотложные состояния в неврологии». – Москва. – 2011.- с.223
152. Сергеев Д.В., Пирадов М.А., Максимова М.Ю., Домашенко М.А., Сергеева А.Н., Охтова Ф.Р. Новые возможности нейропротекции при ишемическом инсульте. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2011. - №4. – с.56-63.

153. Maximova M.Ju., Komelkova L.V., Okhtova F.R. Ionova V.G. Role of adhesion molecules in acute ischemic stroke. // J.Allergology and Immunology. XVIII International Congress on Rehabilitation in Medicine and Immunorehabilitation. - London.- 2013. – №2. - V.14. – p.136
154. Maximova M.Ju., Komelkova L.V., Okhtova F.R. Ionova V.G. Immunological change in acute ischemic stroke. // Allergy, asthma, immunophysiology: from basic science to clinical application. Italy.- 2012. – p.207-210.
155. Maximova M.Ju., Komelkova L.V., Okhtova F.R., Zhirnova I.G. Adhesion molecules in acute ischemic stroke. // Allergy, asthma, immunophysiology: from basic science to clinical application. Italy.- 2013. – p.125-127.
156. Maximova M.Ju., Komelkova L.V., Okhtova F.R., Ionova V.G. Changes of humoral immunity in acute ischemic stroke. // Allergy, asthma, immunophysiology: from basic science to clinical application. - Italy.- 2013. – p.127-129.
157. Maximova M.Ju., Komelkova L.V., Okhtova F.R. Immunodeficient change in ischemic stroke. // Allergology and Immunology. XX World Congress on immunopathology, respiratory allergy & Astma. New-York. -2014.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ - артериальная гипертония

ВК - вязкость крови

ДС МАГ - дуплексное сканирование магистральных артерий головы

ИИ - ишемический инсульт

ИРИ - иммунный регуляторный индекс

МА - молекулы адгезии

МкАТ - моноклональные антитела

МРТ - магнитно-резонансная томография

ПЭГ - полиэтиленгликоль

СД - сахарный диабет

ФНО- $\alpha$  - фактор некроза опухоли- $\alpha$

фФВ - фактор фон Виллебранда

ЦИК - циркулирующие иммунные комплексы

ЭКГ - электрокардиография

Эхо - КГ - эхокардиография

HLA - молекулы главного комплекса гистосовместимости

Ht - гематокрит

ICAM (Intercellular Adhesion Molecule) - молекула межклеточной адгезии

IgG, IgA, IgM - иммуноглобулины класса G, A, M

NIHSS - National Institutes of Health Stroke Scale (Шкала инсульта Национального института здоровья)

НК клетки - натуральные или естественные киллеры

sE-selectin (CD62E) - растворимый E-селектин

sICAM-1 (CD54) - межклеточная эндотелиальная адгезивная молекула

sICAM-3 (CD50) - растворимая форма молекулы межклеточной адгезии

sPECAM-1 (CD31) - тромбоцитарно-эндотелиальная адгезивная молекула

sP-selectin (CD62P) - тромбоцитарный селектин

sVCAM-1 (CD106) - растворимая форма молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 типа