

ЦЫПУШТАНОВА МАРИЯ МИХАЙЛОВНА

**МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА И МОЗГА
ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МИКРОАНГИОПАТИИ
(КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.24. Неврология

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

**Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении
«Научный центр неврологии»**

Научные руководители:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук

**Добрынина Лариса Анатольевна
Шабалина Алла Анатольевна**

Официальные оппоненты:

Захаров Владимир Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нервных болезней и нейрохирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет);

Ройтман Александр Польевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 г. в «_:» часов на заседании диссертационного совета 24.1.186.01 при ФГБНУ НЦН по адресу: 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, дом 80.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ НЦН по адресу: 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, дом 80 и на сайте www.neurology.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2023 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Кузнецова Полина Игоревна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Возраст-зависимая церебральная микроангиопатия (ЦМА)/ болезнь мелких сосудов (англ. – cerebral small vessel disease / cerebral microangiopathy) является главной причиной сосудистых и смешанных с дегенерацией когнитивных расстройств (КР), одной из ведущих причин инсультов [Боголепова А. Н., 2015; Парфенов В.А., 2017; Пирадов М.А. и др., 2017; Калашникова Л. А., Гулевская Т.С., Добрынина Л.А., 2018; Gorelick P., et.al., 2011; Wardlaw J. M. et.al., 2013].

Ведущим в повреждении мозга при ЦМА является ишемия/ гипоксия белого вещества, обусловленная прогрессирующим артериолосклерозом [Гулевская Т.С., Моргунов В. А., 2009; Гераскина Л. А., Фонякин А. В., 2009; Максимова М.Ю., Гулевская Т.С., 2019; Pantoni L., 2010]. Другим обсуждаемым механизмом является повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) с развитием нейровоспаления [Low A. et.al., 2019]. Поскольку повреждение ГЭБ является признанным механизмом развития и болезни Альцгеймера (БА) [Sweeney M. D., Sagare A. P., Zlokovic B. V., 2018], можно предполагать его определяющее значение в развитии коморбидности ЦМА и БА [Toledo J.V. et.al., 2013; Attems J., Jellinger K.A., 2014]. Доминирование смешанных форм КР у пожилых, имеющих более высокий риск развития деменции [Sachdev P. et al., 2014; Karasi A. et.al., 2017; Kim H.W. et al., 2020], схожесть нейропсихологического профиля и наличие гиперинтенсивности белого вещества (ГИБВ) на МРТ головного мозга у значительной части пациентов с ЦМА и БА, обосновывают актуальность поиска биомаркеров дифференцирования причин КР и перехода от сосудистой к смешанной форме ЦМА с БА.

Потенциальные возможности дифференцирования данных форм могут иметь показатели крови и ЦСЖ, ассоциированные с повреждением ГЭБ, мозга и нейродегенерацией. Данные исследования при ЦМА с КР немногочисленны. Они включают оценку нескольких показателей, в основном без уточнения их связей с особенностями КР и МРТ-проявлениями и без сопоставления маркеров, характерных для КР вследствие ЦМА, с таковыми при БА.

К классическим маркерам повреждения ГЭБ, подтвердившим свое значение при ЦМА, относят фибриноген в ЦСЖ и коэффициент альбумина в крови и ЦСЖ [Hermann P., et al., 2014; Wallin A., et al., 2017; McAleese K., et al., 2019]. Другими установленными маркерами повреждения ГЭБ у пациентов с ЦМА и КР в ЦСЖ являются повышенные уровни – ММР-2 и -9 (matrix metalloproteinase, матриксная металлопротеиназа) [Bjerke M. et al., 2014], в крови – TNF α (tumor necrosis factor- α , фактор некроза опухоли- α) [Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et.al., 2020], t-PA (tissue-type plasminogen activator, тканевой активатор плазминогена) [Забитова М.Р., 2018]. Установлена связь объема ГИБВ с повышенными уровнями ММР-9 и возможность использования ММР-2 и -9 в дифференцировании сосудистых КР от дегенеративных [Bjerke M.

et.al., 2011, Rosenberg G.A. et.al., 2014, Rosenberg G.A. et.al., 2015]. Фибриноген и t-PA также показали корреляцию с выраженностью ГИБВ при ЦМА, а t-PA – с тяжестью КР [Забитова М.Р., 2018].

Среди маркеров повреждения мозга и нейродегенерации в нескольких исследованиях показана связь повышения NEFL (neurofilament light chain, легких цепей нейрофиламентов) с поражением белого вещества и венрикуломегалией при ЦМА [Wallin A. et al., 2017], снижения Аβ (β-амилоид) 1-42 в ЦСЖ при сосудистой деменции с низкими показателями общего когнитивного уровня [Skillback T. et al., 2014] и при БА – с наличием микрокровоизлияний (Мкр) [Goos J.D. et.al., 2012].

Таким образом, актуальность диагностирования чисто сосудистых форм и их перехода в смешанные с БА обосновывает оценку показателей повреждения ГЭБ, мозга и нейродегенерации при ЦМА и их сравнения с БА для уточнения общих и дифференцирующих маркеров и связанных с ними механизмов. Доступность диагностических маркеров ЦМА позволит объективизировать вклад сосудистого поражения в развитие БА и смешанных форм, оценивать прогрессирование заболевания на основании сочетания маркеров ЦМА и БА, а также может стать инструментом идентификации однородных выборок с деменцией для будущих клинических исследований.

Цель исследования:

определить маркеры повреждения гематоэнцефалического барьера, мозга и нейродегенерации при ЦМА и оценить их диагностические возможности.

Задачи исследования:

1. Оценить клинические проявления и тяжесть поражения мозга у пациентов основной группы – церебральной микроангиопатии (ЦМА), группы сравнения – вероятной болезни Альцгеймера (далее БА) и в контроле.
2. Определить уровень показателей, ассоциированных с повреждением гематоэнцефалического барьера, в крови и ЦСЖ у пациентов с ЦМА и БА, в крови – в контроле.
3. Определить уровень показателей, ассоциированных с повреждением мозга, в крови и ЦСЖ у пациентов с ЦМА и БА, в крови – в контроле.
4. Определить уровень амилоидных белков (Аβ1-42, Аβ1-40), тау-протеина в крови и ЦСЖ у пациентов с ЦМА и БА, в крови – в контроле.
5. Оценить связь клинических проявлений, сосудистых факторов риска и тяжести поражения мозга у пациентов с ЦМА с показателями, ассоциированными с повреждением гематоэнцефалического барьера и мозга.

Научная новизна

Впервые одновременно на одной выборке пациентов с ЦМА, вероятной БА и в контроле с едиными методическими стандартами были оценены биохимические показатели повреждения ГЭБ, мозга и нейродегенерации в крови и ЦСЖ и проведены их сопоставления.

Впервые уточнены диагностические маркеры ЦМА и ее дифференцирования от БА, сосудистых КР от дегенеративных вследствие вероятной БА. Диагностическая значимость данных маркеров подтверждена сопоставлением их уровней с особенностями клинических проявлений, нейровизуализационными изменениями и сосудистыми факторами риска.

Впервые предложен подход диагностирования смешанных форм ЦМА и БА и высокого риска развития деменции по сочетанию установленных маркеров ЦМА и БА.

Впервые установлено, что маркеры ЦМА имеют диагностическую значимость, начиная с ранних стадий заболевания – субъективных КР и минимальных МРТ-изменений.

Для ЦМА и БА были выявлены общие патологические механизмы, опосредуемые повышением VEGF-C (vascular endothelial growth factor type C, сосудистый эндотелиальный фактор лимфоангиогенеза), MMP-2, -9 в крови. Отличающими данные заболевания маркерами являются: для ЦМА – повышение TNF- α в крови и ЦСЖ и GFAP (glial fibrillary acidic protein, глиофибриллярный кислый белок) в ЦСЖ; для БА – повышение NEFL и снижение A β 1-40 в крови, снижение A β 1-42 и его соотношение с A β 1-40 в ЦСЖ, повышение тау-протеина в крови и ЦСЖ.

Теоретическая значимость работы

Установлены биохимические маркеры, позволяющие диагностировать ЦМА и дифференцировать ее от БА на основании стандартизированной диагностики показателей повреждения гематоэнцефалического барьера, мозга и нейродегенерации в крови и ЦСЖ на одной выборке пациентов и группы контроля.

Высокая чувствительность и специфичность установленных диагностических маркеров ЦМА и ее дифференцирования от БА позволяет использовать их в качестве эквивалента доминирования определенных механизмов поражения мозга и на основании их сочетания прогнозировать возможность коморбидности ЦМА и БА с развитием смешанных форм КР, приводящих к утяжелению течения заболевания.

Уточнение общих и преимущественно характерных для ЦМА и БА механизмов указывает на потенциальные пути развития смешанных форм у пациентов с ЦМА. В соответствии с полученными данными, воспаление, ассоциированное с TNF- α , является инициирующим механизмом и поддерживается GFAP-активацией у пациентов с ЦМА, что в последующем приводит к NEFL-ассоциированной гибели миелина, аксональной дегенерации и отложению патологических белков нейродегенерации.

Практическая значимость работы

Диагностическая точность установленных маркеров ЦМА и дифференцирования ЦМА от БА подтверждена их взаимосвязью с особенностями КР и МРТ-изменений, что позволяет использовать данные маркеры в клинической практике и по отклонению от пороговых значений делать заключение о характере процесса и потенциальной коморбидности ЦМА и БА в качестве условия более тяжелого течения заболевания.

Использование диагностических маркеров крови и ЦСЖ при ЦМА обеспечивает возможность дифференцирования сосудистой этиологии КР при схожести клинического паттерна ЦМА и БА.

Применена методология определения и использования Аβ 1-42, Аβ 1-40, тау-протеина и их коэффициентов кровь/ЦСЖ в клинической практике.

Установлены маркеры крови, имеющие высокую чувствительность и специфичность в диагностике ЦМА, чье значение подтверждено их изменениями в ЦСЖ с тяжестью заболевания.

Методология и методы исследования

Обследовались пациенты основной группы с ЦМА и КР, диагностированной по МРТ-критериям STRIVE [Wardlaw J., et al., 2013], группы сравнения – с вероятной БА [Dubois V. et al., 2021], – и здоровые добровольцы группы контроля. Однократно оценивались течение заболевания, сосудистые факторы риска, когнитивные функции по расширенному протоколу с использованием признанных шкал. Всем участникам проводилась МРТ головного мозга с оценкой МРТ-признаков ЦМА, БА и воксель-ориентированная морфометрия.

У всех участников бралась кровь, а у пациентов с ЦМА и БА – ЦСЖ для определения отобранных маркеров повреждения ГЭБ, мозга и нейродегенерации. Большинство показателей в крови и ЦСЖ оценивались методом ИФА сэндвич-типа, концентрация фибриногена в крови определялась по методу Клауса, а альбумин в крови и ЦСЖ – на автоматическом биохимическом анализаторе.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Пациенты с ЦМА по сравнению с вероятной БА сопоставимого возраста характеризуются более высокой встречаемостью АГ тяжелого течения и курения, меньшей частотой деменций при равной степени выраженности УКР. МРТ-признаки – распространенная ГИБВ, лакуны и микрокровоизлияния – являются высокоспецифичными для ЦМА, тогда как атрофия, характерная для БА, встречается и при ЦМА.
2. Диагностика ЦМА, особенно на ранней стадии с недостаточной выраженностью МРТ-признаков ЦМА, а также при КР сложного нейропсихологического профиля с доминированием амнестического компонента, должна включать оценку уточненных

диагностических маркеров ЦМА – повышение TNF- α , VEGF-C, MMP-2, -9, GFAP в крови – и маркеров дифференцирования ЦМА от БА – повышение TNF- α в крови и ЦСЖ, GFAP в ЦСЖ, снижение NEFL в крови и NSE (neuron-specific enolase, нейрон-специфической энлазы) в ЦСЖ.

3. Однонаправленное повышение при ЦМА и БА в крови маркеров, ассоциированных с лимфангиогенезом и амилоидогенезом, свидетельствует об общности механизмов заболеваний, определяющих формирование смешанных форм.
4. Прогрессирование КР при ЦМА определяется тяжестью повреждения гематоэнцефалического барьера и мозга, ассоциированного с повышением TNF- α в крови и ЦСЖ и GFAP в ЦСЖ. Диагностика БА наряду со снижением A β 1-42 и повышением тау-протеина в ЦСЖ может опираться на повышение NEFL и тау-протеина, снижение A β 1-40 в крови. Диагностика смешанных форм ЦМА и БА, являющихся прогностически наиболее неблагоприятными, может проводиться на основании сочетания диагностических биохимических и МРТ-признаков двух заболеваний.
5. Выраженность МРТ-признаков ЦМА – лакун и микрокровоизлияний – тесно связана с повышением уровня маркеров повреждения ГЭБ и мозга – t-PA в крови и ЦСЖ, GFAP в крови, TNF- α , VEGF-C, MMP-9 в ЦСЖ. Гетерогенность вариантов течения ЦМА обусловлена доминированием различных механизмов, ассоциированных со своими ведущими маркерами повреждения ГЭБ, мозга или нейродегенерации.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов определяется количеством наблюдений, постановкой цели и задач, критериями включения пациентов в исследование, использованием в работе современных методов обследования, применением адекватного задачам исследования статистического анализа. Диссертация апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании научных сотрудников клинических отделений и лабораторий клинической и профилактической неврологии, института мозга, института нейрореабилитации и восстановительных технологий ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Протокол №4 от 27 июня 2023 года). Материалы диссертации были представлены на 9-м Конгрессе Европейской академии неврологии, XII Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения», Нейрофоруме-2023, Российском конгрессе лабораторной медицины-2023.

Публикации

По материалам диссертации подготовлено 14 публикаций, из них 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автор разрабатывал протокол исследования, проводил набор клинического материала (сбор анамнеза и подробный неврологический осмотр пациентов, оценка сосудистых факторов риска, оценка когнитивных расстройств по шкалам, сбор образцов крови и ЦСЖ), анализировал и интерпретировал полученные лабораторные данные (под руководством заведующей отдела лабораторной диагностики ФГБНУ НЦН, д.м.н. Шабалиной А.А.). Также автор проводил статистический анализ полученных данных и подготовку статей с последующей их публикацией в научных журналах. Автором проанализированы основные отечественные и зарубежные источники литературы, проведена статистическая обработка, обобщены данные.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования внедрены в практическую работу 1-го, 2-го, 3-го, 5-го неврологических отделений, консультативно-диагностического отделения, а также в учебный процесс подготовки ординаторов, аспирантов и врачей-неврологов, обучающихся на циклах повышения квалификации в ФГБНУ НЦН.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу и иллюстрирована 57 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, общей характеристики обследованных лиц и методов исследования, главы собственных результатов исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и литературного указателя, содержащего 35 отечественных, 215 зарубежных источников и 14 публикаций с участием автора, подготовленных по теме диссертации.

Соответствие паспорту научной специальности

Актуальность, научная новизна, практическая и теоретическая значимости данной диссертационной работы соответствуют Паспортам научных специальностей:

1) 3.1.24. «Неврология», предметная область исследования соответствует пункту:

3. Сосудистые заболевания нервной системы.

Паспорта научных специальностей ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации (Медицинские науки)

2) 3.3.8. «Клиническая лабораторная диагностика», предметная область исследования соответствует пункту:

3. Клинико-лабораторные методы исследования для определения тяжести, периода и срока болезни, прогноза, контроля за лечением и его результатами.

Паспорта научных специальностей ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации (Медицинские науки)

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось в ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва) с 2020 по 2023 г.: клиническая часть – на базе 3-го неврологического отделения, лабораторная – в отделе лабораторной диагностики. Исследование и его протокол были одобрены локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН № 10-5/20 от 27.11.2020.

Общая характеристика групп исследования

В исследование включено 111 человек, соответствующих критериям включения и невключения и подписавших информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

Основную группу составило 68 пациентов ($61,0 \pm 8,6$ лет; муж. 60,3%) с ЦМА (критерии STRIVE, Wardlaw J., et al., 2013) и КР, группу сравнения – 17 пациентов ($65,2 \pm 8,3$ лет; муж. 35,3%) с вероятной БА (критерии международной рабочей группы, Dubois V. et al., 2021), группу контроля – 26 здоровых добровольцев ($59,9 \pm 6,7$ лет; муж. 38,6%).

Общие критерии невключения в исследование: малый субкортикальный инфаркт (менее 3 мес), тяжелая соматическая патология (снижение фракции выброса $< 50\%$, клубочковая фильтрация < 30 мл/мин, сахарный диабет (СД) 1-го типа, тяжелый СД 2-го типа; некомпенсированная дисфункция щитовидной железы), атеросклеротический стеноз экстра- или интракраниальных артерий $> 50\%$, обострение соматического или инфекционного заболевания за 1 месяц до взятия лабораторного материала, противопоказания для проведения МРТ.

Клиническое обследование

Оценивались демографические данные, неврологический и соматический анамнез, сосудистые факторы риска, когнитивный и эмоциональный профили пациентов.

Тестирование когнитивных функций (КФ) проводилось с использованием общепризнанных шкал, показавших свою чувствительность при ЦМА [Добрынина Л.А. и др., 2018]. На основании результатов Монреальской шкалы оценки КФ (MoCA) [Nasreddine Z.S. et al., 2005] и шкалы независимости в повседневной жизни (Instrumental activities of daily living scale, IADL) [Lawton M.P., Brody E.M., 1969] определялась тяжесть КР. Диагностировались субъективные (СубКР), умеренные КР (УКР) и деменция при наличии у пациентов когнитивных жалоб и $MoCA \geq 26$, $MoCA < 26$ с независимостью в повседневной жизни и $MoCA < 26$ с зависимостью от окружающих, соответственно. Типы КР определялись на основании отклонений в σ результатов оценки управляющих функций мозга (УФМ) и отсроченной памяти у пациентов от группы контроля. Тип КР определялся по преобладанию отклонений в одном из доменов: дизрегуляторный и амнестический при изолированном/ преимущественном нарушении УФМ и памяти соответственно и смешанный – при равном отклонении в УФМ и памяти [Sachdev P. et

al., 2014]. Все участники оценивались по госпитальной шкале тревоги и депрессии.

МРТ-исследование головного мозга

МРТ головного мозга проводилось всем участникам на МР-томографе Siemens Magnetom Prisma (3 Тесла) (Siemens AG, Erlangen, Германия). Тяжесть ЦМА определялась по сумме МРТ-признаков STRIVE [Wardlaw J.M. et al., 2013], соответственно от 1 до 4 признаков (лакуны, МКР, расширенные ПВП в базальных ганглиях умеренной или тяжелой степени, ГИБВ в стадии Fazekas 2 и 3) [Staals J. et al., 2014].

Методом воксель-ориентированной морфометрии (Ashburner J., Friston K.J., 2000) с помощью пакета SPM12 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) определялись показатели головного мозга, включающие объемы ГИБВ, серого и белого вещества и ЦСЖ.

Визуальную оценку степени атрофии головного мозга проводили с использованием стандартизированных шкал отдельно в обоих полушариях: шкала атрофии медиальных отделов височной доли – МТА (medial temporal lobe atrophy score) [Heo J.H. et al., 2013], шкала атрофии теменной доли – шкала Коэдама (Koeadam) [Kaushik S. et al., 2021].

Лабораторные методы определения показателей крови и цереброспинальной жидкости

У пациентов в крови и ЦСЖ оценивались TNF- α , VEGF-C, MMP-2 и -9, фибриноген, t-PA, GFAP, NEFL, NSE, бета-амилоиды – A β 1-42 и A β 1-40, общий тау-протеин. В группе контроля данные показатели исследовались только в крови.

Определение GFAP, NEFL, NSE, A β 1-42, A β 1-40, общего тау-протеина, TNF- α , t-PA, VEGF-C, MMP-2, -9 в ЦСЖ и крови, а также уровня фибриногена в ЦСЖ проводили твердофазным иммуноферментным методом сэндвич-типа на планшетном ридере РЕАЛ-Бест (Россия) и VICTOR 2 (Perkin Elmer, США). Использовались наборы реагентов Euroimmun AG (Германия), Technoclone (Австрия), Cloud Clone Corporation (США, Китай), R&D Systems (США, Китай), Вектор-Бест (Россия). Концентрацию фибриногена в крови определяли по методу Клауса на автоматическом коагулометре ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory США) с использованием реагентов Instrumentation Laboratory (США), а альбумин в крови и ЦСЖ – на автоматическом биохимическом анализаторе.

Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения SPSS Statistics 26 (IBM). Основной описательной статистикой для категориальных и порядковых переменных были частота и доли (%), для количественных переменных – средние значения и среднее квадратичное отклонение или медиана и квартили. Во всех случаях использовали двусторонние варианты статистических критериев. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$.

Качественные показатели между группами сравнивали при помощи критерия хи-квадрат Пирсона. Тип распределения количественных переменных оценивали при помощи построения и оценки частотных гистограмм, а также при помощи критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Количественные показатели сравнивали при помощи Т-критерия и критерия Манна-Уитни или однофакторного дисперсионного анализа и Краскела-Уоллиса при количестве категорий группирующей переменной более 2-х, апостериорные попарные сравнения проводили с помощью критерия наименьшей значимой разницы и критерия Манна-Уитни. Для оценки предсказательной способности отдельных показателей в развитии ожидаемых исходов использовали ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic) с определением площади под кривой, чувствительности и специфичности для установленного порога.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика пациентов с ЦМА, БА и группы контроля

Клиническая характеристика исследуемых групп представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с ЦМА, БА и группы контроля

Показатель	ЦМА n=68	БА n=17	Контроль n=26	p
Возраст, годы (mean±SD)	61,0±8,6	65,2±8,3	59,9±6,7	>0,05
Мужской пол (n, %)	41 (60,3%)	6 (35,3%)	10 (38,5%)	>0,05
АГ (n, %)	66 (97,1%)	12 (70,6%)	12 (46,2%)	0,000
Степень АГ (n, %): 1	4/66 (6,1%)	5/12 (41,7%)	7/12 (58,3%)	0,000
2	20/66 (30,3%)	5/12 (41,7%)	5/12(41,6%)	
3	42/66 (63,6%)	2/12 (16,7%)	-	
СД 2 типа (n, %)	13 (19,1%)	1 (5,9%)	-	>0,05
Гиперхолестеринемия (n, %)	26 (38,2%)	7 (41,8%)	-	>0,05
Курение (n, %)	24 (35,3%)	3 (17,6%)	8 (3,8%)	0,005
Ожирение 1–2 степени (n, %)	22 (32,4%)	1 (5,9%)	6 (23%)	>0,05

Исследуемые группы не отличались по полу и возрасту. АГ и курение были более частыми при ЦМА. АГ при ЦМА имела более тяжелое течение.

Пациенты с ЦМА по сравнению с БА имели менее выраженные КР и характеризовались смешанным и дизрегуляторным типами КР. Пациенты с БА имели преимущественно амнестический тип КР, что соответствовало критерию включения (Таблица 2).

Таблица 2

Когнитивный профиль у пациентов ЦМА, группы сравнения (БА) и контроля

Показатель	ЦМА n=68	БА n=17	Контроль n=26	p
MoCA (баллы, Me [Q25%; Q75%])	22 [19; 26]	19 [12; 22]	29 [27; 29]	0,000
КР (n, %):				0,028
деменция	27 (39,7%)	11 (64,7%)	-	
УКР	21 (30,9%)	6 (35,3%)	-	
субКР	20 (29,4%)	-	-	
Типы КР (n, %):				0,000
смешанный	34/48 (70,8%)	-	-	
дизрегуляторный	11/48 (22,9%)	17 (100%)	-	
преимущественно амнестический	3/48 (6,3%)	-	-	

МРТ-характеристика ЦМА и БА

Пациенты двух групп имели отличия по наличию признаков ЦМА. Степень атрофии различалась по ее меньшей выраженности в медиальных отделах правой височной доли при ЦМА, тогда как степень атрофии в медиальных отделах левой височной доли и теменной доли не имела значимых различий между группами (Таблица 3).

Таблица 3

МРТ-макроструктурные изменения у пациентов ЦМА и БА

Показатель	ЦМА n=68	БА n=17	p
ГИБВ, стадии по шкале Fazekas (F) (%): F2/ F3	8,8%/ 91,2%	-	0,000
Лакуны (%)	82,4%	-	0,000
Микрокровоизлияния (%)	70,1%	11,8%	0,000
Расширенные ПВП (%)	100%	76,5%	0,001
Общий балл ЦМА (%) 1/ 2/ 3/ 4	2,9%/ 10,3%/ 23,5%/ 63,3%	-	0,000
Степень МТА справа (%) 0/ 1/ 2/ 3/ 4	33,8%/ 51,5%/ 13,2%/ 0/ 1,5%	0/ 76,5%/ 23,5%/ 0/ 0	0,035
Степень МТА слева (%) 0/ 1/ 2/ 3/ 4	32,4%/ 52,9%/ 11,8%/ 2,9%/ 0	5,9%/ 64,7%/ 23,5%/ 5,9%/ 0	>0,05
Шкала Коедам (%) 0/ 1/ 2/ 3	64,7%/ 30,9%/ 2,9%/ 1,5%	35,3%/ 64,7%/ 0/ 0	>0,05

Сопоставление объемных МРТ-характеристик головного мозга ожидаемо показало значимые различия между группами по большему объему ГИБВ при ЦМА и меньшему объему серого вещества при БА (Таблица 4).

Таблица 4

Объемные МРТ-характеристики головного мозга пациентов основной группы (ЦМА) и группы сравнения (БА)

Показатель	ЦМА n=68	БА n=17	p
	(Me [Q25%; Q75%])		
Объем ГИБВ (см ³)	45,120 [29,04; 72,90]	4,06 [1,40; 5,78]	0,000
Объем всего серого вещества (см ³)	618,68 [579,95; 663,51]	573,60 [551,93; 612,35]	0,001
Объем всего белого вещества (см ³)	478,49 [432,02; 543,74]	455,88 [408,96; 486,63]	> 0,05
Объем ЦСЖ (см ³)	417,99 [370,30; 482,13]	393,27 [357,37; 426,46]	> 0,05

Лабораторные маркеры повреждения ГЭБ и головного мозга при ЦМА

На Рисунках 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 (А), 14, 16, 18 представлены установленные уровни (Me [Q25%; Q75%]) исследуемых показателей, ассоциированных с повреждением ГЭБ и мозга, в крови во всех исследуемых группах и в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА, а также межгрупповые сравнения между ними. На Рисунках 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13 (Б), 15, 17, 19 приведены результаты ROC-анализа в отношении показателей, показавших достоверные различия, с уточнением значимости их пороговых значений в диагностировании и дифференцировании ЦМА и БА.

Установлено значимое повышение TNF-α при ЦМА в крови и ЦСЖ (Рисунок 1).



Рисунок 1 – TNF-α (пг/мл) в крови в исследуемых группах и в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

Показатели ROC-кривой позволяют рассматривать TNF-α диагностическим маркером ЦМА по крови и ЦСЖ и дифференцирующим маркером ЦМА от БА по ЦСЖ (Рисунок 2).

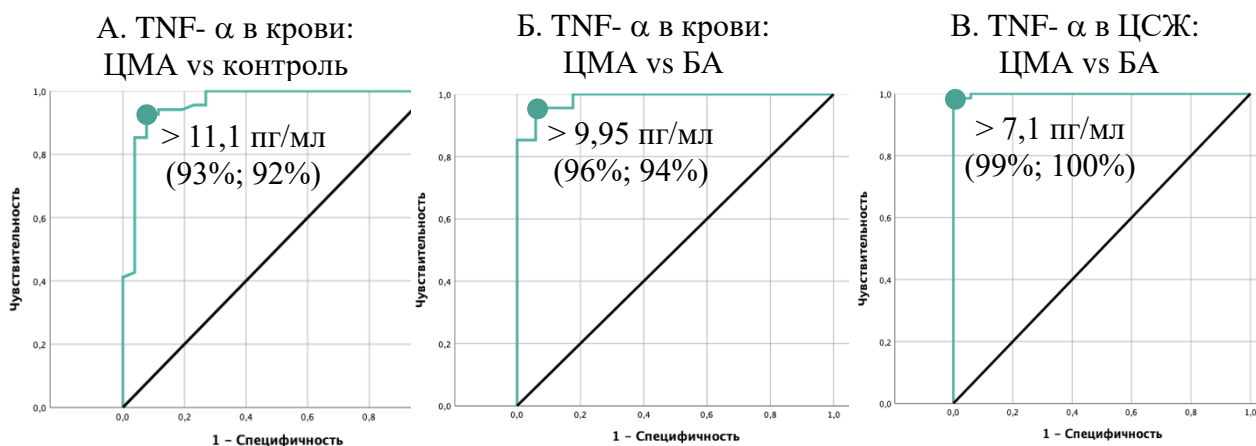


Рисунок 2 – ROC-кривая TNF-α в крови у пациентов с ЦМА в отношении контроля (А), у пациентов с ЦМА в отношении БА (Б), в ЦСЖ у пациентов с ЦМА в отношении БА (В)

VEGF-C в крови был значимо выше при ЦМА и БА по сравнению с контролем, а в ЦСЖ его уровень при ЦМА был ниже, чем при БА (Рисунок 3).

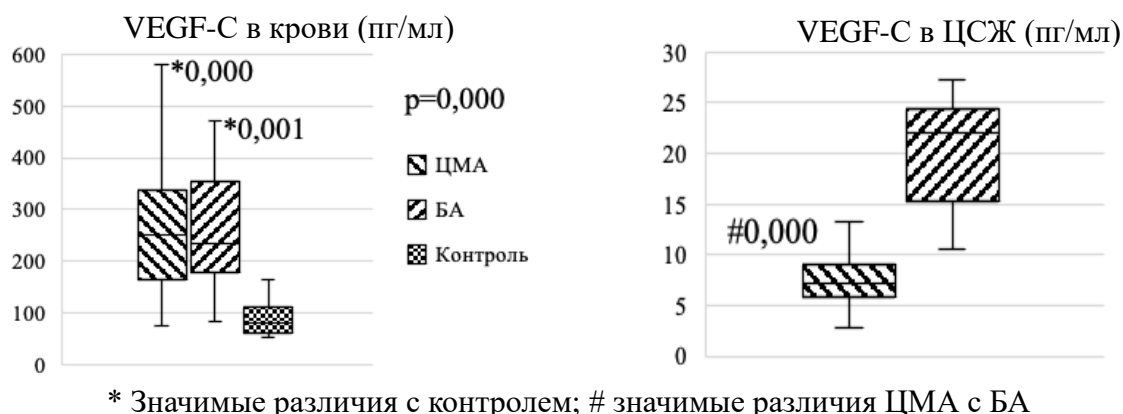


Рисунок 3 – VEGF-C (пг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

ROC-кривая установила пороговые уровни VEGF-C в крови, позволяющие дифференцировать ЦМА и БА от контроля (Рисунок 4).

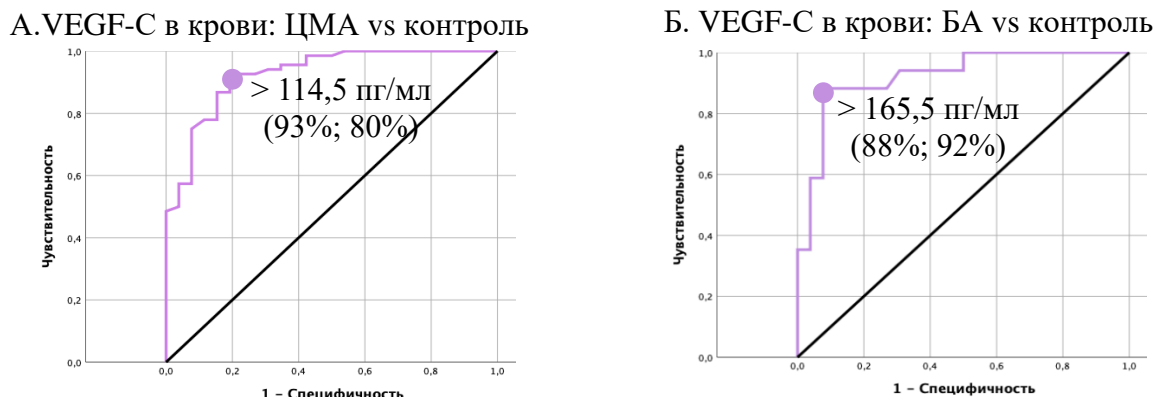
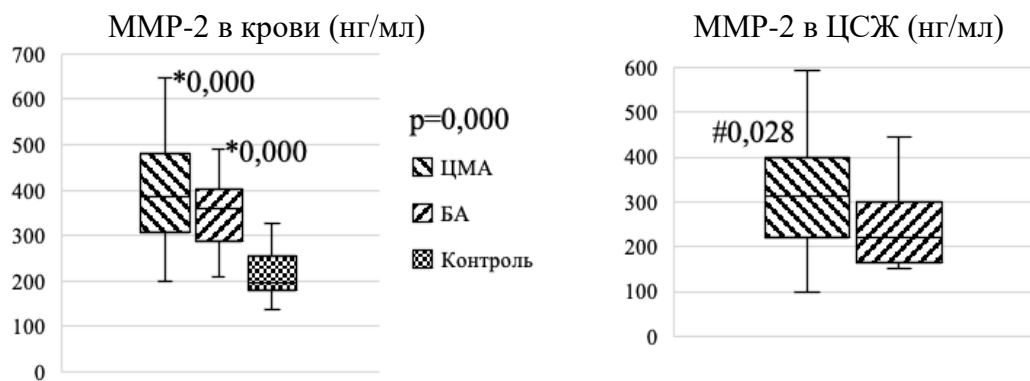


Рисунок 4 – ROC-кривая VEGF-C в крови у пациентов с ЦМА в отношении контроля (А), у пациентов с БА в отношении контроля (Б)

ММР-2 в крови были значимо выше при ЦМА и БА, чем в контроле; в ЦСЖ ММР-2 были значимо выше при ЦМА, чем при БА (Рисунок 5).



* Значимые различия с контролем; # значимые различия ЦМА

Рисунок 5 – ММР-2 (нг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

Пороговые значения ММР-2 в крови для диагностики ЦМА и БА приведены на Рисунке 6.

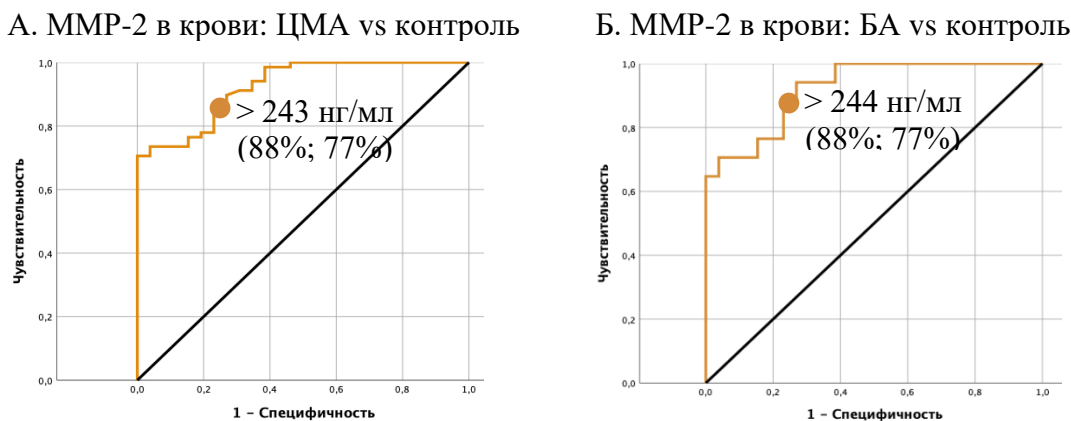
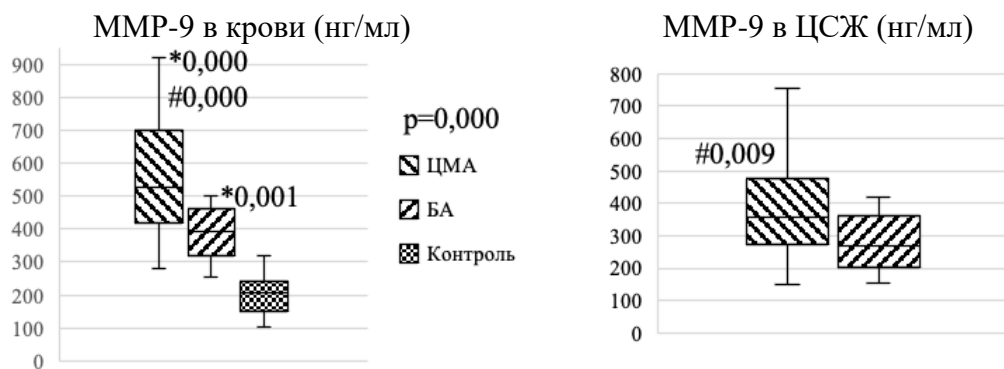


Рисунок 6 – ROC -кривая ММР-2 в крови у пациентов с ЦМА в отношении контроля (А), у пациентов с БА в отношении контроля (Б)

Схожесть пороговых диагностических значений ММР-2 в крови для ЦМА и БА указывает на общность механизмов двух заболеваний, ассоциированных с ММР-2. Подобные изменения были выявлены для ММР-9: повышение в крови при ЦМА и БА и в ЦСЖ – при ЦМА (Рисунок 7).



* Значимые различия с контролем; # значимые различия ЦМА с

Рисунок 7 – ММР-9 (нг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

Установленные пороговые диагностические значения ММР-9 в крови для ЦМА и БА также указывают на общность механизмов двух заболеваний, ассоциированных с ММР-9 (Рисунок 8).

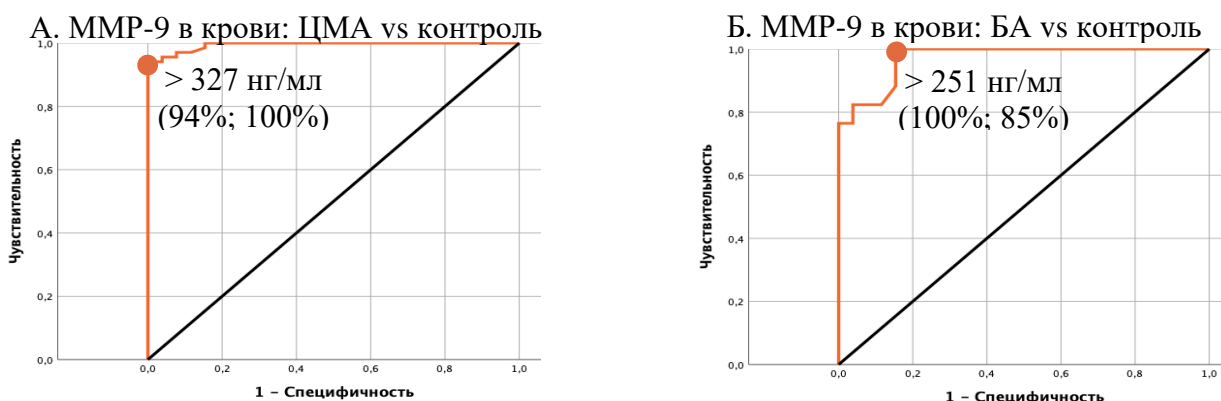
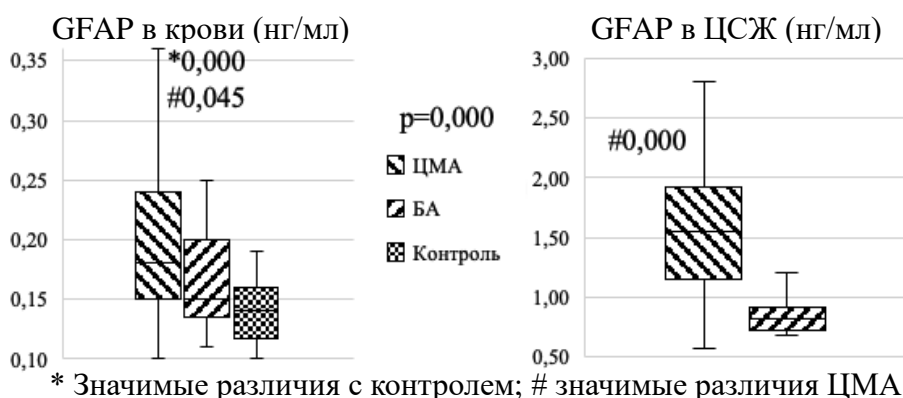


Рисунок 8 – ROC -кривая ММР-9 в крови у пациентов с ЦМА в отношении контроля (А), у пациентов с БА в отношении контроля (Б)

Уровни GFAP в исследуемых группах приведены на Рисунке 9.



* Значимые различия с контролем; # значимые различия ЦМА с

Рисунок 9 – GFAP (нг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

Уровень GFAP был повышенным в крови при ЦМА по сравнению с контролем и БА и в ЦСЖ при ЦМА по сравнению с БА. Установлены диагностический уровень GFAP в крови для ЦМА и возможность дифференцирования ЦМА от БА по его уровню в ЦСЖ (Рисунок 10).

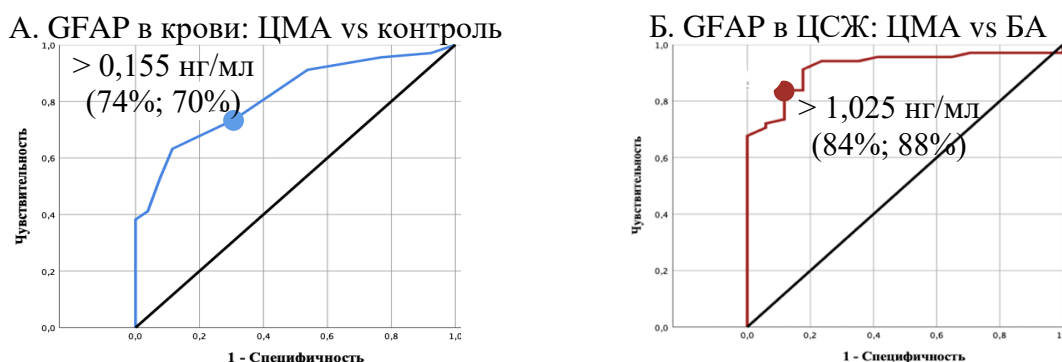


Рисунок 10 – ROC -кривая GFAP в крови у пациентов с ЦМА в отношении контроля (А), в ЦСЖ у пациентов с ЦМА в отношении БА (Б)

Уровни NSE в крови и ЦСЖ исследуемых группах приведены на Рисунке 11.

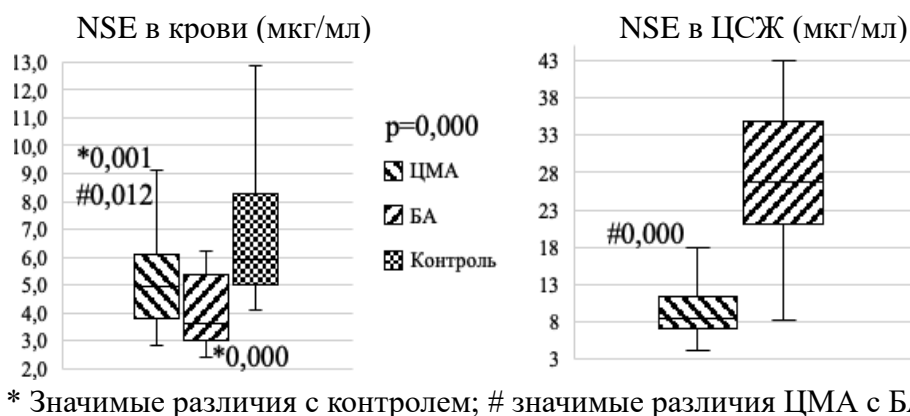


Рисунок 11 – NSE (мкг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ – у пациентов с ЦМА и БА

В ЦСЖ установлен пороговый уровень NSE, дифференцирующий ЦМА с БА (Рисунок 12).

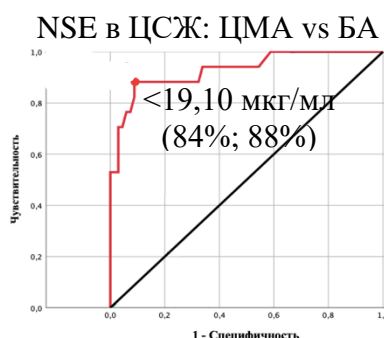


Рисунок 12 – ROC-кривая NSE в ЦСЖ у пациентов с ЦМА в отношении БА

Для NEFL в крови установлен значимо более низкий уровень при ЦМА по сравнению с БА, но при обоих заболеваниях NEFL были выше, чем в контроле. NEFL продемонстрировал возможность дифференцирования ЦМА от БА по более низкому уровню в крови, что подтверждает его большую значимость для БА (Рисунок 13).

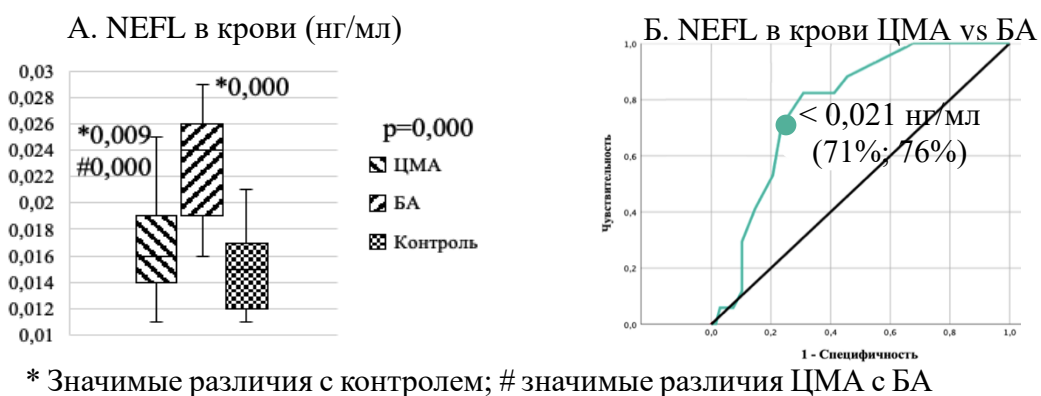


Рисунок 13 – NEFL (нг/мл) в крови в исследуемых группах (А), ROC-кривая NEFL в крови у пациентов с ЦМА в отношении БА (Б)

Снижение Аβ 1-42 в ЦСЖ имело диагностическую значимость для БА, тогда как его изменения в крови при ЦМА и БА отличались от контроля, но не между собой (Рисунок 14).

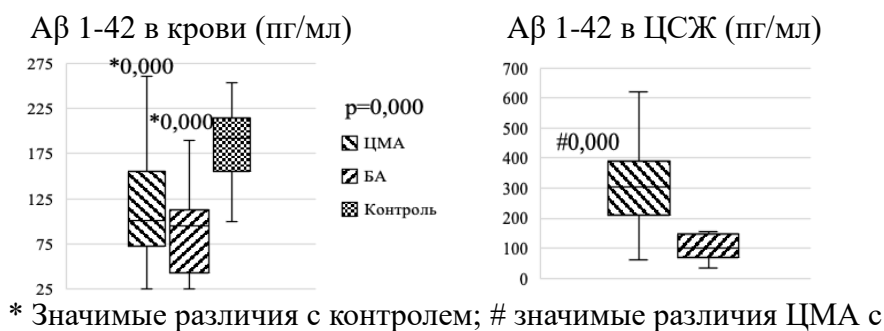


Рисунок 14 – Аβ 1-42 (пг/мл) в крови у пациентов с ЦМА и БА и группы контроля, в ЦСЖ у пациентов с ЦМА и БА

Установлено, что уровень Аβ 1-42 < 158 пг/мл в крови является диагностически значимым для ЦМА, а Аβ 1-42 > 157 пг/мл в ЦСЖ позволяет дифференцировать ЦМА от БА (Рисунок 15).

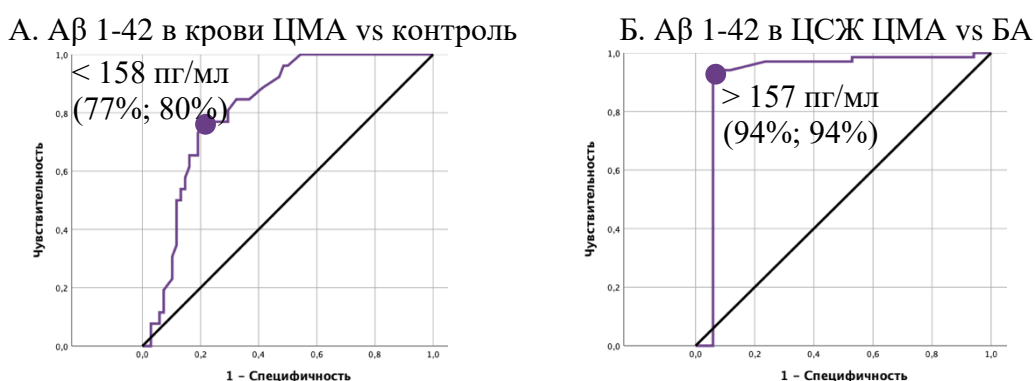


Рисунок 15 – ROC-кривая Аβ 1-42 в крови при ЦМА (А), в ЦСЖ – ЦМА против БА (Б)

Уровень Аβ 1-40 в крови имел общую тенденцию с Аβ 1-42 – снижение для ЦМА и БА по отношению к контролю. В ЦСЖ Аβ 1-40 был ниже при ЦМА, чем при БА (Рисунок 16).

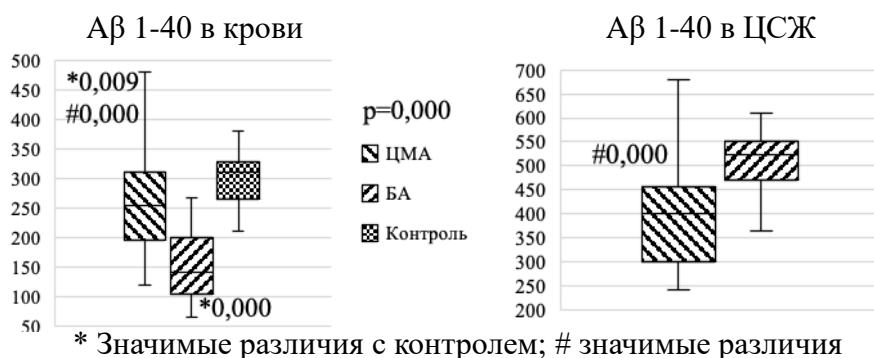


Рисунок 16 – Аβ 1-40 (пг/мл) в крови у пациентов исследуемых групп, в ЦСЖ – при ЦМА и БА

В отношении Аβ 1-40 для ЦМА не было установлено диагностической значимости, но было определено значение Аβ 1-40, дифференцирующее ЦМА от БА, при его исследовании в крови, ЦСЖ, а также отношения Аβ 42/40 в ЦСЖ (Рисунок 17).

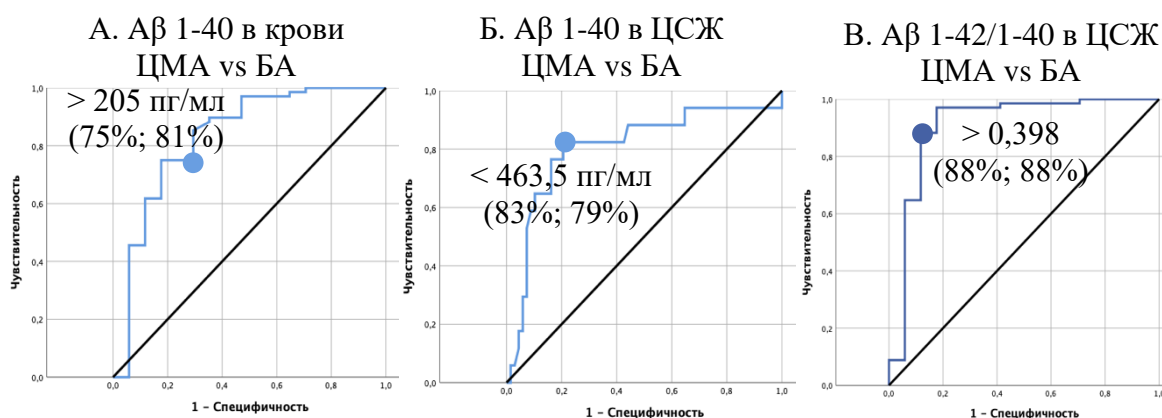


Рисунок 17 – ROC-кривая Аβ 1-40 в крови у пациентов с ЦМА в отношении БА (А), в ЦСЖ у пациентов с ЦМА в отношении БА (Б), Аβ 42/40 в ЦСЖ у пациентов с ЦМА в отношении БА (В)

При определении общего тау-протеина в крови и ЦСЖ были получены значимые различия ЦМА от БА, характеризующиеся более высоким тау-протеином при БА (Рисунок 18).

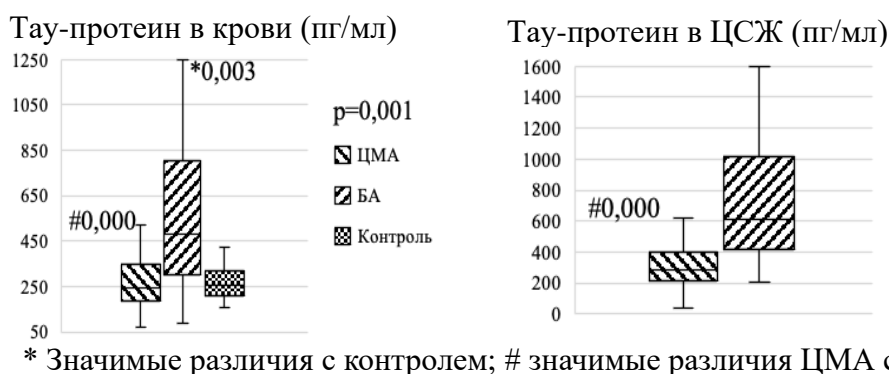


Рисунок 18 – Тау-протеин (пг/мл) в крови в исследуемых группах, в ЦСЖ при ЦМА и БА

С помощью ROC-анализа диагностической значимости тау-протеина был определен его пороговый уровень, который позволяет дифференцировать ЦМА от БА (Рисунок 19).

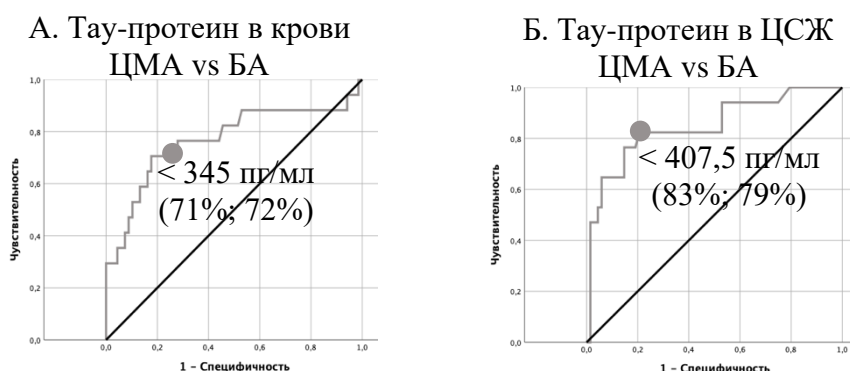


Рисунок 19 – ROC-кривая тау-протеина в крови (А) и ЦСЖ (Б) ЦМА против БА

Когнитивные расстройства и маркеры повреждения ГЭБ и мозга

В Таблице 5 приведено сравнение групп ЦМА с разной тяжестью КР и контролем по уровню маркеров повреждения ГЭБ и мозга в крови.

Таблица 5

Сравнение уровней маркеров повреждения ГЭБ и мозга в крови при ЦМА с КР разной тяжести и в контроле

Показатель крови	Контроль n=26 (0)	Тяжесть КР при ЦМА			p	p, post-hoc
		СубКР n=20 (1)	УКР n=21 (2)	деменция n=27 (3)		
		(Me [Q25%; Q75%])				
TNF- α (пг/мл)	6,6 [4,5; 10,1]	16,9 [14,7; 26,7]	16,52 [14,8; 19,6]	17,36 [14,8; 23,5]	0,000	0-1,2,3<0,000
VEGF-C (пг/мл)	80 [62; 112]	270,5 [210; 347]	185 [150; 273]	217 [167; 345]	0,000	0-1,2,3<0,000
MMP-9 (нг/мл)	205 [153; 239]	542,5 [354; 840]	560 [380; 679]	485 [442; 620]	0,000	0-1,2,3<0,000
MMP-2 (нг/мл)	195 [180; 240]	360 [244; 505]	415 [310; 451]	372 [322; 490]	0,000	0-1,2,3<0,000
t-PA (нг/мл)	3,6 [2,9; 5,2]	6,55 [4,4; 9,9]	6,6 [4,0; 8,6]	4,3 [2,7; 8,8]	0,009	0-1,2<0,023 1-3<0,035
GFAP (нг/мл)	0,14 [0,12; 0,16]	0,18 [0,16; 0,24]	0,21 [0,15; 0,25]	0,17 [0,15; 0,21]	0,000	0-1,2,3 0,000
NSE (мкг/мл)	5,9 [5,1; 8,2]	4,8 [3,8; 5,9]	5,3 [4,0; 6,1]	4,9 [3,5; 6,0]	0,006	0-1 0,004 0-2 0,025 0-3 0,002
A β 1-42 (пг/мл)	191,5 [160; 214]	104 [75; 143]	100 [68; 115]	115 [79; 160]	0,000	0-1,2,3<0,000
A β 1-40 (пг/мл)	310 [265; 320]	270 [200; 313]	260 [210; 315]	250 [190; 310]	0,046	0-1,2,3<0,042
A β 1-42/ 1-40	0,64 [0,46; 0,70]	0,51 [0,34; 0,57]	0,39 [0,24; 0,57]	0,42 [0,29; 0,82]	0,022	0-1,2,3<0,034

При ЦМА с КР, начиная со стадии СубКР, уровни маркеров повреждения ГЭБ в крови характеризовались значимым повышением TNF- α , VEGF-C, MMP-2 и 9, GFAP, t-PA, тогда как уровни маркеров повреждения мозга и нейродегенерации: NSE, A β 1-42, A β 1-40, A β 1-42/1-40, – значимым снижением. Это указывает на высокое значение данных маркеров и отражаемых ими механизмов развития КР при ЦМА.

Факторы сосудистого риска и маркеры повреждения ГЭБ и мозга

Сравнение уровня маркеров крови и ЦСЖ с особенностями АГ представлено в Таблице 6.

Таблица 6

Сравнение уровней маркеров крови и ЦСЖ при ЦМА с АГ 2 и 3 степени и в контроле

Показатель	Степень АГ при ЦМА		Контроль n=26 (1)	p	p, post-hoc
	2-ая n=20 (2)	3-я n=42 (3)			
	(Me [Q25%; Q75%])				
Фибриноген (г/л) в ЦСЖ	0,013 [0,09; 0,17]	0,009 [0,03; 0,13]	-	0,030	-
Фибриноген (г/л) в крови	3,40 [2,70; 3,95]	2,85 [2,60; 3,40]	2,80 [2,60; 3,20]	0,021	1-2 0,012 2-3 0,013
GFAP (нг/мл) в крови	0,20 [0,17; 0,25]	0,17 [0,14; 0,21]	0,14 [0,12; 0,16]	0,000	1-2,3 < 0,001 2-3 0,018

Установлено, что с нарастанием степени АГ фибриноген значимо снижался в ЦСЖ, тогда как в крови получены различия в виде его повышения при ЦМА с АГ 2 степени. Уровень GFAP в крови при АГ 2 и 3 степенях был значимо выше, чем в контроле, а при АГ 2 степени – выше, чем при 3. Полученные данные косвенно указывают на снижение проницаемости ГЭБ при тяжелой АГ из-за выраженного артериолосклероза на данной стадии заболевания.

Маркеры повреждения ГЭБ и мозга и МРТ-проявлениями ЦМА

Уточнялись связи маркеров крови и ЦСЖ с количеством МРТ-признаков ЦМА (Таблица 7).

Уровни маркеров повреждения ГЭБ (t-PA, фибриноген, VEGF-C и GFAP) в крови были значимо выше при ЦМА с разным числом МРТ-признаков по сравнению с контролем, но при этом значимо снижались у пациентов с 4-мя по сравнению с 3-мя МРТ-признаками.

С нарастанием тяжести ЦМА в ЦСЖ снижались уровни TNF- α , VEGF-C, фибриногена и t-PA.

Данные результаты схожи с полученными для ЦМА с тяжелой АГ. Они также косвенно указывают на снижение проницаемости ГЭБ и поддержание связанных с этим реакций, декомпенсации лимфангиогенеза при тяжелой ЦМА.

Таблица 7

Сравнение уровней маркеров крови и ЦСЖ при разной тяжести ЦМА с контролем

Показатель	Тяжесть ЦМА (количество МРТ-признаков)			Контроль n=26 (1)	p	p, post-hoc
	1-2, n=9 (2)	3, n=16 (3)	4, n=43 (4)			
	(Me [Q25%; Q75%])					
TNF- α (пг/мл) в ЦСЖ	22,5 [10,3; 26,9]	27,7 [13,3;35,7]	13,8 [11,6;18,3]	-	0,012	3-4 0,003
VEGF-C (пг/мл) в ЦСЖ	7,10 [6,9; 8,2]	8,75 [7,3;11,0]	6,80 [5,40; 8,15]	-	0,025	3-4 0,007
VEGF-C (пг/мл) в крови	255,0 [185; 327]	367,5 [252; 496]	185,0 [148,0; 283,0]	80,0 [62,0; 112,0]	0,000	1-2,3,4 0,000 3-4 0,003
Фибриноген (г/л) в ЦСЖ	0,014 [0,01; 0,02]	0,016 [0,01; 0,02]	0,008 [0,004; 0,012]	-	0,009	3-4 0,005
Фибриноген (г/л) в крови	3,6 [3,4; 3,9]	3,7 [3,1; 4,15]	2,8 [2,5; 3,3]	2,85 [2,6; 3,2]	0,000	1-2,3 0,007 4-2,3 0,004
t-PA (нг/мл) в ЦСЖ	2,10 [1,55; 2,5]	2,55 [1,95; 4,0]	1,50 [1,0; 1,9]	-	0,000	3-4 0,000
t-PA (нг/мл) в крови	7,7 [4,5; 9,5]	6,7 [5,35; 8,6]	4,2 [2,5; 8,8]	3,55 [2,9; 5,2]	0,003	1-2,3 0,006 3-4 0,028
GFAP (нг/мл) в крови	0,19 [0,16; 0,23]	0,25 [0,18; 0,28]	0,17 [0,15; 0,21]	0,14 [0,12; 0,16]	0,000	1-2,3,4 0,000 3-4 0,009

Уровни маркеров повреждения ГЭБ (t-PA, фибриноген, VEGF-C и GFAP) в крови были значимо выше при ЦМА с разным числом МРТ-признаков по сравнению с контролем, но при этом значимо снижались у пациентов с 4-мя по сравнению с 3-мя МРТ-признаками.

С нарастанием количества МРТ-признаков ЦМА в ЦСЖ снижались уровни TNF- α , VEGF-C, фибриногена и t-PA.

Данные результаты схожи с полученными для ЦМА с тяжелой АГ. Они также косвенно указывают на снижение проницаемости ГЭБ и поддержание связанных с этим реакции декомпенсации лимфангиогенеза при тяжелой ЦМА.

Проводилось уточнение связей исследованных маркеров с выраженностью МРТ-признаков ЦМА: лакун (Таблица 8) и Мкр (Таблица 9).

Уровни маркеров повреждения ГЭБ в крови (t-PA, фибриноген, VEGF-C и GFAP) и в ЦСЖ – t-PA – были ниже при ЦМА с выраженными лакунарными изменениями, чем у пациентов без лакун, но в целом уровень данных маркеров при ЦМА значимо превышал таковой в контроле (Таблица 8). Это может объясняться наличием форм ЦМА с преимущественным повреждением капилляров, при которых высокая проницаемость ГЭБ и связанные с этим процессы являются ведущими механизмами, тогда как развитие множественных лакун свидетельствует о поражении артериол и мелких артерий с развитием артериолосклероза, ассоциированного с механизмами ишемии/ гипоксии, но не повышенной проницаемости ГЭБ.

Таблица 8

Сопоставление уровня маркеров повреждения ГЭБ и мозга с выраженностью лакун у пациентов с ЦМА и группой контроля

Показатель	Наличие лакун при ЦМА			Контроль n=26 (0)	p	p, post-hoc
	нет, n=12 (1)	<10, n=18 (2)	>10, n=38 (3)			
	(Me [Q25%; Q75%])					
VEGF-C (пг/мл) в крови	353 [269; 385]	180 [150; 270]	216 [158; 297]	80,0 [62,0; 112,0]	0,000	0-1,2,3 0,000 1-2 0,024 1-3 0,020
GFAP (нг/мл) в крови	0,25 [0,19; 0,28]	0,18 [0,17; 0,24]	0,17 [0,15; 0,21]	0,14 [0,12; 0,16]	0,000	0-1,2,3 0,000 1-3 0,019
Фибриноген (г/л) в крови	3,6 [2,8; 3,95]	3,45 [3,0; 3,7]	2,8 [2,6; 3,3]	2,85 [2,60; 3,20]	0,005	0-1 0,010 0-2 0,015 1-3 0,009 2-3 0,013
t-PA (нг/мл) в крови	6,25 [4,65; 9,40]	8,25 [4,5; 9,0]	4,25 [2,5; 7,7]	3,55 [2,00; 5,20]	0,001	0-1 0,004 0-2 0,001 1-3 0,027 2-3 0,010
t-PA (нг/мл) в ЦСЖ	2,35 [1,4; 3,0]	2,1 [1,67; 2,8]	1,5 [1,0; 1,9]	-	0,002	1-3 0,012 2-3 0,002

Уровень GFAP в крови был выше при ЦМА по сравнению с контролем и значимо снижался в группе с Мкр>10 по отношению к группе ЦМА с отсутствием Мкр. Подобные закономерности были выявлены и в ЦСЖ – снижение TNF- α , VEGF-C, MMP-9, фибриногена и t-PA при ЦМА с количеством Мкр>10 по сравнению с их отсутствием (Таблица 9).

Таблица 9

Сопоставление уровня маркеров повреждения ГЭБ и мозга у пациентов с ЦМА с разной выраженностью микрокровоизлияний и группой контроля

Показатель	Наличие Мкр при ЦМА			Контроль n=26 (0)	p	p, post-hoc
	нет, n=19 (1)	<10, n=15 (2)	>10, n=34 (3)			
	(Me [Q25%; Q75%])					
TNF- α (пг/мл) в ЦСЖ	26,9 [12,3; 32,4]	18,3 [11,6; 26,6]	13,8 [11,6; 16,4]	-	0,019	1-3 0,005
VEGF-C (пг/мл) в ЦСЖ	8,40 [6,95; 11,3]	7,15 [5,30; 7,95]	7,10 [5,40; 8,15]	-	0,026	1-2 0,050 1-3 0,009
MMP-9 (нг/мл) в ЦСЖ	479 [324; 612]	346 [270; 446]	335 [246; 410]	-	0,039	1-3 0,012
t-PA (нг/мл) в ЦСЖ	2,40 [1,67; 3,80]	1,60 [1,10; 2,50]	1,55 [0,99; 1,90]	-	0,005	1-3 0,001
Фибриноген (г/л) в ЦСЖ	0,015 [0,01; 0,02]	0,013 [0,006; 0,017]	0,008 [0,002; 0,011]	-	0,002	1-3 0,001 2-3 0,045
GFAP (нг/мл) в крови	0,21 [0,17; 0,26]	0,18 [0,16; 0,25]	0,17 [0,14; 0,22]	0,14 [0,12; 0,16]	0,000	0-1,2 0,000 0-3 0,001 1-3 0,035

Полученные результаты для Мкр близки к установленным для лакун и свидетельствуют об изменении профиля маркеров повреждения ГЭБ между стадиями ранней и поздней ЦМА по типу: от повышенной проницаемости ГЭБ с воспалением и реакцией астроглии к тяжелому артериолосклерозу и поражению мозга с ограничением компенсаторных реакций.

На основании установленных диагностических маркеров ЦМА, подтвердивших значимость связями с особенностями КР и МРТ-изменениями была составлена сводная таблица диагностических маркеров крови и ЦСЖ ЦМА и дифференцирования ее от БА (Таблица 10).

Таблица 10

Сводная таблица диагностических маркеров ЦМА и дифференцирующих ее от БА

	Диагностические маркеры ЦМА	Дифференцирующие маркеры ЦМАvsБА
Кровь	\uparrow TNF- α >11,1 пг/мл \uparrow GFAP>0,155 нг/мл	TNF- α >9,95 пг/мл NEFL < 0,021 нг/мл Тау < 345 пг/мл А β 1-40 > 205 пг/мл
ЦСЖ		TNF- α > 7,1 пг/мл GFAP > 1,025 нг/мл NSE < 23,45 мкг/мл А β 1-42 > 157 пг/мл А β 1-40 < 463,5 пг/мл Тау < 407,5 пг/мл

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено поиску биохимических маркеров, обладающих предиктивными возможностями в отношении диагностики ЦМА и дифференцирования ее от БА на основании оценки показателей повреждения ГЭБ (TNF- α , VEGF-C, MMP-2, -9, фибриноген), мозга (NEFL, GFAP, NSE) и нейродегенерации (А β 1-42, А β 1-40, тау-протеин) в крови и ЦСЖ.

Диагностическими биохимическими маркерами ЦМА при отклонении их уровня от пороговых величин являются: повышение TNF- α , VEGF-C, MMP-2, -9, GFAP в крови, – маркерами дифференцирующими ЦМА от БА: повышение TNF- α в крови и ЦСЖ, снижение NEFL в крови, повышение GFAP и снижение NSE в ЦСЖ.

Выявление при ЦМА и БА единых и дифференцирующих маркеров свидетельствует о наличии общих, вероятно, формирующих коморбидность заболеваний, и различающих их механизмов. Общие звенья патогенеза ЦМА и БА опосредованы повышением VEGF-C, MMP-2, -9 в крови. Характерными особенностями для ЦМА являются повышение TNF- α в крови и ЦСЖ и GFAP в ЦСЖ; для БА – повышение NEFL и снижение А β 1-40 в крови, снижение А β 1-42 в ЦСЖ, повышение тау-протеина в крови и ЦСЖ.

TNF- α -ассоциированное воспаление, наиболее вероятно, является инициирующим механизмом ЦМА. Оно поддерживается GFAP-активацией и в последующем приводит к NEFL-ассоциированной гибели миелина, аксональной дегенерации и отложению патологических белков.

Более широкое использование установленных маркеров в исследовательской и клинической практике позволит определять ведущие патогенетические механизмы поражения головного мозга, дифференцировать сосудистые и нейродегенеративные причины КР и их коморбидность. Это является крайне важным в разработке патогенетической терапии и оценке ее эффективности при ЦМА и БА, прогнозировании течения заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Пациенты с ЦМА по сравнению с вероятной БА сходного возраста характеризуются более частой встречаемостью сосудистых факторов риска – АГ тяжелого течения и курения, меньшей частотой деменции при одинаковой представленности УКР. Выраженная гиперинтенсивность белого вещества и наличие лакун имеют высокую диагностическую значимость для ЦМА в отличие от атрофии височных и теменных долей, встречающихся в обеих группах, преобладая при БА.
2. Показатели повреждения ГЭБ и мозга – повышение уровней TNF- α , VEGF-C, MMP-2, -9, GFAP в крови – могут быть использованы в качестве диагностических маркеров ЦМА, а повышение концентраций TNF-альфа в крови и ЦСЖ, GFAP в ЦСЖ, снижение NEFL в крови и NSE в ЦСЖ – как дифференцирующие маркеры ЦМА от БА при отклонении их уровня от установленных пороговых величин.
3. Показателями нейродегенерации с диагностической значимостью для ЦМА являются А β 1-42 в крови при снижении ниже порогового уровня; дифференцирующими ЦМА от БА – А β 1-40 при повышении в крови и снижении в ЦСЖ, А β 1-42 при повышении в ЦСЖ, тау-протеин при снижении в крови и ЦСЖ.
4. Развитие когнитивных расстройств, начиная со стадии субъективных отклонений, при ЦМА связано с повышением в крови уровня маркеров повреждения ГЭБ – TNF-альфа, VEGF-C, MMP-2, -9, t-PA, GFAP – и снижением уровня маркеров повреждения мозга и нейродегенерации – NSE, А β 1-42, А β 1-40 и соотношения А β 1-42/1-40. Тяжесть и длительность АГ при ЦМА связана со значимым снижением уровней GFAP и NEFL в крови.
5. Тяжесть и выраженность МРТ-признаков ЦМА тесно связаны с уровнем маркеров повреждения ГЭБ и мозга – t-PA в крови и ЦСЖ, GFAP в крови, TNF-альфа, VEGF-C, MMP-9 в ЦСЖ. Наибольшие значения показателей отмечались на ранних стадиях ЦМА и наименьшие – при выраженных изменениях, что соответствует высокой значимости повышенной проницаемости ГЭБ и ассоциированных с этим реакцией на ранних стадиях заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно создание панели биохимических маркеров когнитивных расстройств при ЦМА для использования в клинической практике с целью прогнозирования тяжести их

течения, оценки механизмов прогрессирования и дифференцирования от болезни Альцгеймера. Рекомендуемые к определению в крови маркеры – TNF- α , MMP-2, -9, NEFL, A β 1-40, A β 1-42, тау-протеина; в ЦСЖ – TNF- α , GFAP, NSE, A β 1-40, A β 1-42, тау-протеина.

2. Приоритет в определении биохимических показателей когнитивных расстройств имеют больные с ЦМА со схожестью клинического паттерна с БА, а также при диссоциации выраженности МРТ-признаков ЦМА с тяжестью и профилем когнитивных расстройств.
3. Пациенты с отклонением показателей, характерных для ЦМА и БА, должны находиться под особым контролем как категория больных с высоким риском тяжелого поражения мозга вследствие потенциальной коморбидности ЦМА и БА.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Добрынина Л.А. Кластеризация диагностических МРТ-признаков церебральной микроангиопатии и ее связь с маркерами воспаления и ангиогенеза / Добрынина Л.А., Гнедовская Е.В., Забитова М.Р., Кремнева Е.И., Шабалина А.А., Макарова А.Г., Цыпуштанова М.М., Филатов А.С., Калашникова Л.А., Кротенкова М.В. // **Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова**. – 2020. – Т. 120. – №. 12-2. – С. 22-31.
2. Добрынина Л.А. (2022b). Выживаемость, изменения когнитивных функций и состояния головного мозга у пациентов с церебральной микроангиопатией (болезнью мелких сосудов): 5-летнее наблюдение. Добрынина Л.А., Гаджиева З.Ш., Кремнева Е.И., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Бициева Э.Т., Филатов А.С., Бырочкина А.А., Кротенкова М.В. // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии**. – 2022. – Т. 16. – №. 4. – С. 18-28. – (K1).
3. Добрынина Л.А. (2022c). Связь нарушений кровотока и ликворотока с повреждением стратегических для когнитивных расстройств зон мозга при церебральной микроангиопатии. Добрынина Л.А., Гаджиева З.Ш., Шамтиева К.В., Кремнева Е.И., Ахметзянов Б.М., Цыпуштанова М.М., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Кротенкова М.В. // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии**. – 2022. – Т. 16. – №. 2. – С. 25-35. – (K1).
4. Добрынина Л.А. Биохимические маркеры нейродегенерации при церебральной микроангиопатии (болезни мелких сосудов) и болезни Альцгеймера / Добрынина Л.А., Цыпуштанова М.М., Шабалина А.А., Шамтиева К.В., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Забитова М.Р., Гаджиева З.Ш., Бициева Э.Т., Бырочкина А.А., Гейнц А.А. // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии**. – 2023. – Т. 17. – №. 3. – С. 21-30. – (K1).
5. Добрынина Л.А. Кластеризация диагностических МРТ-признаков церебральной микроангиопатии и ее связь с маркерами воспаления и ангиогенеза. Добрынина Л.А., Гнедовская Е.В., Забитова М.Р., Кремнева Е.И., Шабалина А.А., Макарова А.Г., Цыпуштанова М.М., Филатов А.С., Калашникова Л.А., Кротенкова М.В. // **Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова**. – 2020. – Т. 120. – №. 12-2. – С. 22-31. – (K1).
6. Добрынина Л.А. Роль изменения экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами / Добрынина Л.А., Макарова А.Г., Шабалина А.А., Бурмак А.Г., Шлапакова П.С., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Трубицына В.В., Гнедовская Е.В. // **Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова**. – 2023. – Т. 123. – №. 9. – С. 58-68. – (K1).
7. Добрынина Л.А. Снижение экспрессии генов *bin1* и *vegfa* при церебральной

- микроангиопатии с когнитивными расстройствами. Добрынина Л.А., Макарова А.Г., Шабалина А.А., Шлапакова П.С., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Гнедовская Е.В. // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции. Поленовские чтения. – 2023. С.167.
8. Лагода Д.Ю. Ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в терапии умеренных когнитивных расстройств при церебральной микроангиопатии. Лагода Д.Ю., Добрынина Л.А., Супонева Н.А., Бакулин И.С., Пойдашева А.Г., Цыпуштанова М.М., Кадыков А.С., Пирадов М.А.//Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2021. – Т. 15. – №. 4. – С. 5-14. – (К1).
 9. Цыпуштанова М.М. Лабораторные маркеры повреждения гематоэнцефалического барьера и нейродегенерации в дифференциальной диагностике церебральной микроангиопатии и болезни Альцгеймера. Цыпуштанова М.М., Добрынина Л.А., Шабалина А.А., Шамтиева К.В., Макарова А.Г., Забитова М.Р., Гаджиева З.Ш. // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции. Поленовские чтения. —2023. С.190.
 10. Dobrynina L. Reduced expression of BIN1 and VEGFA genes in patients with cerebral small vessel disease and cognitive impairment / L. Dobrynina, A. Makarova, A. Shabalina, P. Shlapakova, M. Tsypushtanova, K. Shamtieva, M. Zabitova, E. Gnedovskaya // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 202.
 11. Shamtieva K. Comparison of signal and biophysical diffusion modeling results in cerebral small vessel disease. / K. Shamtieva, L. Dobrynina, E. Kremneva, A. Geints, V. Gepard, M. Tsypushtanova, A. Makarova, Z. Gadzhieva, A. Filatov, V. Trubitsyna, M. Krotenkova // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 268.
 12. Gadzhieva Z. 5-Year survival and cognitive changes in patients with cerebral small vessel disease / Z. Gadzhieva, L. Dobrynina, E. Kremneva, K. Shamtieva, M. Tsypushtanova, A. Makarova, M. Zabitova, A. Filatov, M. Krotenkova // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 453-454.
 13. Tsypushtanova M.M. Markers of damage to the blood-brain barrier and brain in cerebral small vessel disease and Alzheimer’s disease / Tsypushtanova M.M., Dobrynina L.A., Shabalina A.A., Shamtieva K.V., Makarova A.G., Zabitova M.R., Gadzhieva Z.Sh., Geints A.A., Gnedovskaya E.V. // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 670.
 14. Tsypushtanova M.M. Circulating markers of blood-brain barrier permeability, lymphangiogenesis and neurodegeneration in cerebral small vessel disease/ Tsypushtanova M.M., Dobrynina L.A., Shabalina A.A., Shamtieva K.V., Makarova A.G., Zabitova M.R. // European Journal of Neurology. (Abstracts of the 9 Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 671.
 15. Макарова А.Г. Роль изменения экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами / А.Г. Макарова, Л.А. Добрынина, А.А. Шабалина, М.М. Цыпуштанова, А.Г. Бурмак, К.В. Шамтиева // Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2023): Сборник тезисов. – М.: Издательство «У Никитинский ворот», 2023. С.95.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия
АД – артериальное давление
БА – болезнь Альцгеймера
БМС – болезнь мелких сосудов
ГИБВ – гиперинтенсивность белого вещества
ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
ИФА – иммуноферментный анализ
КР – когнитивные расстройства
КФ – когнитивные функции
Мкр – микрокровоизлияния
ПВП – периваскулярные пространства
СД – сахарный диабет
Смеш – смешанный
СубКР – субъективные когнитивные расстройства
Тау – тау протеин общий
УКР – умеренные когнитивные расстройства
УФМ – управляющие функции мозга
ЦМА – церебральная микроангиопатия
ЦСЖ – цереброспинальная жидкость
А β – амилоид бета
А β 1-40, 1-42 – амилоид бета 1-40, 1-42
F2, F3 стадии 2 и 3 по шкале Fazekas
GFAP – Glial fibrillary acidic protein, глиофибрилярный кислый белок
IADL – Instrumental activities of daily living scale, шкала инструментальной активности в повседневной жизни
IL-1 β – интерлейкин-1 β
MMP 2-, MMP-9 – matrix metalloproteinases 2, 9, матриксные металлопротеиназы 2, 9
MMP – matrix metalloproteinases, матриксные металлопротеиназы
MoCa – Montreal Cognitive Assessment, Монреальская шкала оценки когнитивных функций
MTA – medial temporal lobe atrophy score, шкала атрофии медиальной височной доли
NEFL – neurofilament light, легкие цепи нейрофиламента
NF – neurofilament, нейрофиламент
NSE – Neuron-specific enolase, нейрон-специфическая энлаза
ROC – Receiver Operator Characteristic, рабочая характеристика приёмника
STRIVE – STandards for ReportIng Vascular changes on nEuroimaging, МРТ- стандарты исследования церебральной микроангиопатии при старении и нейродегенерации
SWI – susceptibility-weighted imaging, изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости
t-PA – tissue type plasminogen activator, тканевой активатор плазминогена
TMT – Trail Making Test, тест прокладывания пути
TNF- α – tumor necrosis factor- α , фактор некроза опухоли- α
VEGF-C – vascular endothelial growth factor-C, сосудистый эндотелиальный фактор лимфоангиогенеза