

УДК 616.831–005.1–07:612.015.39

## СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ РЕАБИЛИТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ

В. В. Алферова, М. Г. Узбеков, Э. Ю. Мисионжник, Е. В. Лукъянюк,  
А. Б. Гехт, В. М. Шкловский, С. Н. Шихов

*Кафедра неврологии и нейрохирургии ГОУ ВПО РГМУ  
им. Н.И. Пирогова*

*ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России*

В настоящее время ишемический инсульт (ИИ) является одной из основных причин снижения работоспособности и инвалидизации среди взрослого населения РФ [2, 5, 11]. Анализ восстановления нарушенных функций после инфаркта мозга свидетельствует о высокой частоте инвалидизации в течение первого года заболевания (77%), при этом тяжелая степень нарушения функций отмечается у 5–13% больных [5, 11]. Таким образом, улучшение реабилитационного потенциала больных в течение первого года ишемического инсульта является по-прежнему актуальной медико-социальной задачей. Сложность решения этой задачи, с одной стороны, определяется неоднородностью этиологических и патогенетических факторов этого заболевания, а с другой – особенностями компенсаторных реакций индивидуального организма больного [2, 5, 11, 19, 22, 23]. Рядом клинических исследований показано, что в восстановительном периоде ишемического инсульта (4–5 мес. заболевания) могут развиваться универсальные, связанные между собой патофизиологические феномены, которые включают хронический окислительный стресс и эндогенную интоксикацию (ЭИ) [1, 12, 17, 19, 20, 23]. Эндогенная интоксикация, вызывая дисбаланс многочисленных биохимических и нейрофизиологических процессов, может влиять на тяжесть течения заболевания [13–15, 20]. В настоящее время установлено влияние ЭИ на качество жизни больных и восстановление нарушенных функций при сердечно-сосудистой и церебро-васкулярной патологии, а также при некоторых психических заболеваниях [13–16]. Клиническое проявление ЭИ определяется, с одной стороны, скоростью образования эндотоксинов, а с другой – активностью систем биотрансформации ксенобиотиков [1, 13, 14]. Поэтому раннее выявление биохимических серологических маркеров ЭИ может послужить самостоятельным

прогностическим фактором неблагоприятного функционального исхода заболевания или снижения реабилитационного потенциала больного. Несмотря на практическую значимость этого направления исследований, в литературе имеются лишь отдельные публикации, посвященные проблеме ЭИ при церебро-васкулярной патологии, включая ишемический инсульт [1, 16].

Интегральная оценка выраженности ЭИ и особенности компенсаторных реакций биотранспорта эндотоксинов могут быть получены при помощи комплекса биохимических тестов, включающих определение молекул средней массы (МСМ), конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА), а также функциональной активности сывороточного альбумина (СА) [13, 14].

В связи с этим, **цель** настоящего исследования – определение потенциальных биохимических серологических маркеров неспецифической эндогенной интоксикации, связанных с восстановлением нарушенных функций, у больных на 4–5 месяце заболевания.

### Материал и методы исследования

Клинико-биохимические исследования проведены на кафедре неврологии и нейрохирургии лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ, на базе Центра патологии речи и нейрореабилитации и в лаборатории патологии мозга Московского НИИ психиатрии.

Основную клиническую группу составили 30 больных (средний возраст  $69 \pm 8$  лет, 18 жен., 12 муж.), на 4–5 месяце после ИИ в системе внутренней сонной артерии. Диагноз перенесенного инфаркта мозга был поставлен на основании анамнестических сведений, результатов клинического осмотра и данных нейровизуализации (магнитно-

резонансной и компьютерной томографии головного мозга). Оценка неврологического статуса основывалась на результатах клинического осмотра и тестирования больных по международной шкале National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [21]. Клинический осмотр больных и биохимическое исследование крови проводились в один и тот же день.

Критериями исключения больных из исследования послужили: тяжелая соматическая патология, которая сопровождалась нарушением системной гемодинамики и метаболизма, психические заболевания и очаговое поражение ЦНС в анамнезе, лакунарные инсульты, тотальная афазия, гемиплегия, выраженные когнитивные нарушения, эпилептические припадки.

Контрольную группу составили 17 испытуемых без клинических признаков церебро-васкулярной недостаточности (ЦВН), сопоставимых по полу и возрасту с группой больных ИИ (Student's *t*-test,  $p < 0,1$ ).

Во всех случаях было получено информированное письменное согласие на проведение обследования. Исследование проведено в соответствии с Хельсинской Декларацией для экспериментов, включающих людей.

#### Биохимические методы исследования

Биохимические параметры у всех больных определяли однократно при поступлении в клинику, до начала какого-либо лечения. Для оценки выраженности ЭИ был применен методологический комплекс, разработанный в МНИИ психиатрии [13, 14]. В настоящей работе основное внимание сконцентрировано на исследовании содержания МСМ и МДА и функциональной активности альбумина (резерв связывания СА). Концентрация МДА в сыворотке крови определяли при помощи теста с тиобарбитуровой кислотой [7]. Уровень МСМ определяли по методу В.В.Николайчика и соавт. [9]. Исследование функционального состояния альбумина сыворотки крови проводили с использованием флуоресцентного метода [4]. При этом определяли «эффективную концентрацию альбумина» (ЭКА) и «общую концентрацию альбумина» (ОКА). Используя эти параметры, вычисляли коэффициент, называемый «резервом связывания альбумина» (РСА):  $РСА = ЭКА / ОКА \times 100\%$ . РСА представляет собой часть связывающих центров альбумина сыворотки крови (%), которые не заняты токсическими метаболитами. Величины РСА отражают функциональное состояние альбуминовой молекулы: отклонение этих величин от нормальных значений указывает на нарушения в альбуминовой молекуле и нарастание эндогенной интоксикации [3, 13, 14]. Функциональные альбуминовые параметры определяли с помощью специального набора (набор «Зон-Альбумин», Россия) и флуоресцентного анализатора АКЛ-01 (Медицинский центр «Зонд», Россия).

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета программ STATISTICA for Windows, Версия 6. Сравнение несвязанных групп проводилось по *t*-тесту Стьюдента (Student's *t*-test), *U*-критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney *U* Test). Для оценки связи признаков использовались ранговые коэффициенты корреляции Спирмена (Spearman Rank Order Correlations  $r_s$ ) и показатели логистической регрессии. Во всех видах статистического анализа различия считались статистически значимыми при достигнутом уровне  $p < 0,05$ .

#### Результаты

Хорошее восстановление неврологических функций, связанное с легким моторным и сенсорным дефицитом и негрубыми нарушениями речи, было выявлено у 30% больных (NIHSS менее 7 баллов). Умеренное восстановление неврологических функций в виде негрубого гемипареза и нарушений речи различной степени выраженности наблюдалось у 47% больных (NIHSS 8–12 баллов). Минимальное восстановление неврологических функций, связанное с выраженным двигательным дефицитом (грубый гемипарез до пареза в дистальных отделах верхней или нижней конечности), нарушениями речи различной степени выраженности, отмечалось у 23% больных (NIHSS более 12 баллов). В большинстве случаев, в группе больных ИИ был выявлен умеренный неврологический дефицит, связанный с медленным темпом восстановления неврологических функций.

При сравнительном анализе биохимических параметров у больных ИИ, в отличие от здоровых испытуемых, выявлено достоверное повышение концентрации эндотоксинов (МСМ и МДА) в сыворотке крови (Mann-Whitney *U* Test,  $p < 0,001$ ). В группе больных ИИ значения медианы МДА составили  $4,47 \text{ ммоль/л} \pm 0,2$  (против значений контроля  $3,64 \text{ ммоль/л} \pm 0,16$ ), медиана МСМ составила  $0,84 \text{ г/л} \pm 0,046$  (против значений контроля  $0,42 \text{ г/л} \pm 0,01$ ). При определении взаимосвязи процессов избыточной липопероксидации (МДА) и образования продуктов распада белков и их комплексов (МСМ) в группе больных, перенесших ИИ, была выявлена умеренная положительная корреляционная связь МДА/МСМ:  $r_s = +0,38$ ;  $p < 0,04$ , которая не отмечалась в контрольной группе. Несмотря на выраженное повышение концентрации МСМ и МДА, данных, подтверждающих прямое влияние этих эндотоксинов на восстановление нарушенных функций у больных, перенесших ИИ, не было получено. Нашими предыдущими исследованиями было показано, что накопление нефизиологических метаболитов (МСМ и МДА) сопровождается компенсаторным изменением системы биотрансформации эндотоксинов, которая связана с функциональной активностью сывороточного альбумина [1]. В группе больных ИИ выявлена патогенетическая связь концентрации МСМ и интегрального показателя

функциональной активности сывороточного альбумина – резерва связывания альбумина. Накопление нефизиологических метаболитов (МСМ) сопровождается снижением резерва связывания альбумина. Это положение подтверждалось результатами логит-регрессии (критерий сопряженности признаков МСМ/РСА,  $\chi^2(1)=9,0$ ,  $p=0,027$ , при отношении шансов OR 14,66). Нарушение биотрансформации эндотоксинов было связано с минимальным восстановлением нарушенных функций. По данным логистической регрессии была выявлена достоверная взаимосвязь (отрицательная регрессионная связь) показателей тяжести очагового неврологического дефицита больных ИИ (суммарный балл по шкале NIHSS) и резерва связывания сывороточного альбумина. Увеличение тяжести очагового неврологического дефицита сопровождалось снижением резерва связывания альбумина: критерий сопряженности признаков NIHSS/РСА,  $\chi^2(1)=4,34$ ,  $p=0,036$ , при отношении шансов (OR) 1,56. Снижение уровня РСА менее 65% (против значений нормы 95%) имело значение относительного риска формирования тяжелого неврологического дефицита.

### Обсуждение

У больных, перенесших ишемический инсульт, на 4–5 месяце заболевания выявлено повышение малонового диальдегида (конечного продукта ПОЛ) и концентрации молекул средней массы. Повышение уровня этих веществ в сыворотке крови больных свидетельствует о формировании неспецифической эндогенной интоксикации [6, 13–15]. Известно, что МДА является чрезвычайно токсичным соединением, обладающим высокой биологической активностью. Легко диффундируя через мембраны, МДА взаимодействует с азотистыми компонентами белков и нуклеотидных оснований ДНК, образуя еще более токсические соединения, например, Шиффовы основания, что может обуславливать запуск дегенеративных процессов в клетках [10, 12, 18, 20]. Накопление МСМ в сыворотке крови при сохранной функции почек является следствием усиленного образования нефизиологических метаболитов [6, 13–15]. МСМ обладают высокой и разнообразной биологической активностью, в частности, подавляют пластические про-

цессы в клетке, связывают и ингибируют ее рецепторный аппарат [6, 13]. Накопление нефизиологических метаболитов (МДА, МСМ) в сыворотке крови больных ИИ, вероятно, является взаимосвязанным процессом, что подтверждается положительной корреляцией этих биомаркеров эндотоксикоза. Наиболее выраженной токсичностью обладают гидрофобные эндотоксины, которые в плазме находятся в связанном состоянии, в основном, в виде комплексов с альбумином [9]. Патологическая активация катаболизма приводит к нарушению системы биотрансформации эндотоксинов, которая связана с сывороточным альбумином [1, 13, 14]. У больных ИИ выявлена патогенетическая связь повышения концентрации эндотоксинов (МСМ) и снижения интегрального показателя функциональной активности сывороточного альбумина – РСА. Известно, что величины РСА отражают функциональное состояние альбуминовой молекулы [3, 4, 13, 14]. Уменьшение функциональной активности альбумина приводит к свободному проникновению липофильных эндотоксинов через мембраны клеток, нарушению внутриклеточного метаболизма и усилению эндотоксикоза [13–15]. Снижение резерва связывания альбумина у больных, перенесших ИИ, вероятно, является одним из патогенетических звеньев нарушения репаративных процессов, связанных с восстановлением нарушенных функций.

Таким образом, использование междисциплинарного подхода позволяет получить наиболее объективную характеристику реабилитационного потенциала больного, а также разработать биохимические серологические маркеры течения заболевания. В качестве потенциального серологического маркера может рассматриваться изменение резерва связывания альбумина. Снижение этого показателя менее 65% (против значений нормы 95%) имеет значение относительного риска формирования тяжелого неврологического дефицита и, вероятно, может приводить к нарушению распределения лекарственных препаратов, меняя их фармакокинетику и фармакодинамику. Определение прогностической значимости серологического биохимического маркера «резерва связывания альбумина» для восстановления нарушенных функций после ишемического инсульта требует дальнейших клинических исследований.

### ЛИТЕРАТУРА

- Алферова В.В., Узбеков М.Г., Мисионжник Э.Ю. и соавт. Эндогенная неспецифическая метаболическая интоксикация и особенности реакции компенсации в восстановительном периоде ишемического инсульта // Журн. неврол. и психиатр. 2010. Т. 110, Вып. 2. С. 23–27.
- Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. С. 13–14.
- Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. М.: Ириус, 1994. Кн. 1. 226 с.
- Грызунов Ю.А., Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е., Пестова А.Б. Флуоресцентный метод для определения массовой концентрации альбумина сыворотки крови человека // Клин. лаб. диагностика. 1994. № 5. С. 32–31.
- Кадыков А.С., Черникова Л.А., Шахпаронова Н.В. Реабилитация неврологических больных. М.: МЕДпресс-информ, 2008. С. 9–21.
- Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений // Клин. лаб. диагностика. 2004. № 3. С. 4–8.
- Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8–10.
- Моин В.М., Мисионжник Э.Ю., Кузнецова З.И. и соавт. Некоторые характеристики метода и реактивов для флуоресцентного определения эффективной и общей концентрации сывороточного альбумина // Клин. лаб. диагностика. 1994. № 5. С. 33–35.
- Николайчик В.В., Моин В.М., Кирковский В.В. и соавт. Способ определения «средних молекул» // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 13–18.
- Прилипко Л.Л., Ерин А.Н., Беляев Б.С. и соавт. Активность перекисного окисления липидов в организме больных шизофренией

и маниакально-депрессивным психозом // Журн. неврол. и психиатр. 1987. Т. 87. С. 100–103.

11. Суслина З.А., Варакин Ю.Я., Верещагин Н.В. Сосудистые заболевания головного мозга: Эпидемиология. Основы профилактики. М.: МЕДпресс-информ, 2009. 352 с.

12. Трофимова С.А. Динамика клинических симптомов и показателей окислительного стресса у больных с последствиями ишемических инсультов в процессе восстановительной терапии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 2007. 27 с.

13. Узбекиев М.Г., Мисионжик Э.Ю. Неспецифический синдром эндогенной интоксикации как интегральный компонент патогенеза психических расстройств // Росс. психиатр. журн. 2000. № 4. С. 56–65.

14. Узбекиев М.Г., Мисионжик Э.Ю., Шмуклер А.Б., Гурович И.Я. и соавт. Нарушение активности моноаминоксидазы и показателей эндогенной интоксикации у больных с первым эпизодом шизофрении // Журн. неврол. и психиатр. 2009. Т. 109. С. 173–178.

15. Уманский М.А., Пинчук Л.Б., Пинчук В.Г. Синдром эндогенной интоксикации. Киев: Наукова Думка, 1991. С. 211–213.

16. Шкловский В.М., Алферова В.В., Узбекиев М.Г. и соавт. Некоторые аспекты нарушения метаболизма у больных, перенесших ише-

мический инсульт // Журн. неврол. и психиатр. 2008. Вып. 23. С. 23–27.

17. Alexandrova M.L., Bochev P.G. Oxidative stress during the chronic phase of stroke // Free Rad. Biol. Med. 2005. Vol. 39. P. 297–316.

18. Beckman K.B., Ames B.N. The free radical theory of aging maturation // Physiol. Rev. 1998. Vol. 78. P. 547–581.

19. Buga A., Dunoiu C., Balseanu A., Popa-Wagner A. Cellular and molecular mechanisms underlying neurorehabilitation after stroke in aged subjects // Roman J. Morphol. Embryol. 2008. Vol. 49, N 3. P. 279–302.

20. Correa M., Maldonado P., da Rosa C.S. Oxidative stress and erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) in hypertensive and ischemic patients of both acute and chronic stages // Biomed. Pharmacother. 2008. Vol. 62, N 5. P. 317–324.

21. Frankel M.R., Morgenstern L.B., Kwiatkowski T. Predicting prognosis after stroke: a placebo group analysis from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke // Trial. Neurology. 2000. Vol. 55. P. 952–959.

22. Johansson B.B. Brain plasticity and stroke rehabilitation. The Willis Lecture // Stroke. 2000. Vol. 31. P. 223–230.

23. Simon D.K., Stenzel-Poore M.P. Mechanisms of ischemic brain damage // Neuropharmacology. 2008. Vol. 55, N 3. P. 310–318.

## СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ РЕАБИЛИТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ

В. В. Алферова, М. Г. Узбекиев, Э. Ю. Мисионжик, Е. В. Лукьянюк, А. Б. Гехт, В. М. Шкловский, С. Н. Шихов

Целью исследования явилось определение потенциальных биохимических серологических маркеров, связанных с восстановлением неврологических функций, у больных с очаговой неврологической симптоматикой вследствие ишемического полушарного инсульта (ИИ). У 30 больных ИИ на 4–5 месяцев заболевания (средний возраст 69±8 лет, 18 жен., 12 муж.) в плазме крови определены показатели концентрации малонового диальдегида (МДА), молекул средней массы (МСМ), функциональной активности альбумина (СА). Контрольная группа включала 17 здоровых испытуемых, сопоставимых по полу и возрасту. Оценка неврологического дефицита проводилась с использованием шкалы NIHSS. В группе больных ИИ выявлено достоверное повышение уровня МСМ и МДА ( $p < 0,001$ ),

которое не было связано с регрессом неврологической симптоматики. Установлена взаимосвязь показателей тяжести очагового неврологического дефицита (суммарный балл NIHSS) и резерва связывания альбумина (РСА). Снижение РСА менее 65% (против значений контрольной группы 95%) является фактором относительного риска тяжелого неврологического дефицита. Вероятно, что снижение РСА может иметь самостоятельную прогностическую значимость для интегральной оценки реабилитационного потенциала больных ИИ.

**Ключевые слова:** реабилитация после инсульта, больные в восстановительном периоде ишемического инсульта, прогноз после инсульта, серологические биомаркеры, уровень молекул средней массы, малоновый диальдегид, альбумин сыворотки крови.

## SEROLOGICAL MARKERS OF ENDOGENEOUS INTOXICATION IN DETERMINING REHABILITATION POTENTIAL FOR THE PATIENTS AFTER ISCHEMIC STROKE

V. V. Alfyorova, M. G. Uzbekov, E. Yu. Misionzhnik, E. V. Loukyanyuk, A. B. Geht, V. M. Shklovsky, S. N. Shikhov

The goal of this investigation was finding potential biochemical serum markers associated with recovery of neurological functions in patients with focal brain impairments caused by hemispheric ischemic stroke. Material: 30 patients (average age 69±8 years, 18 females and 12 males) four to five months after the ischemic stroke. In patients' and in healthy controls' (17 persons matched for sex and age) blood serum, the researchers measured the levels of 'middle molecules' (MM) and malonic dialdehyde (MDA), and the functional activity of serum albumin (SA). Patients' neurological deficit was measured with the NIHSS scale. A significant increase of the MM and MDA levels ( $p < 0,001$ ) was found in pati-

ents' group that was not associated with improvement of neurological symptoms. A relation was established between the total score of severity of neurological deficit according to the NIHSS and the albumin binding capacity (ABC). The ABC decrease lower than 65% (vs. 95% in controls) seemed to be a risk factor for severe neurological deficit. The ABC decrease could have predictive value for integral evaluation of the rehabilitation potential of patients after the ischemic stroke.

**Key words:** rehabilitation after ischemic stroke, patients in recovery period after ischemic stroke, post-stroke prognosis, serum biological markers, middle molecules, malonic dialdehyde, serum albumin.

Алферова Вера Вадимовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ сосудистых заболеваний головного мозга кафедры неврологии и нейрохирургии №1 ГОУ ВПО РГМУ им. Н.И.Пирогова; e-mail: valferova@mail.ru

Узбеков Марат Галиевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории патологии мозга ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России; e-mail: uzbekovmg@mtu-net.ru

Мисионжик Эдуард Юльевич – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии мозга ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Лукьянюк Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Гехт Алла Борисовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии №1 ГОУ ВПО РГМУ им. Н.И.Пирогова; e-mail: guext@mail.ru

Шкловский Виктор Маркович – доктор психологических наук, профессор, академик РАО, руководитель отдела ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России

Шихов Сергей Николаевич – старший научный сотрудник ФГУ «Московский НИИ психиатрии» Минздравсоцразвития России