

Сравнительная характеристика содержания кандидатных молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте

А. М. Голубев, А. В. Гречко, В. Е. Захарченко,
М. М. Канарский*, М. В. Петрова, И. В. Борисов*

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Comparative Characterization of Candidate Molecular Markers in Ischemic and Hemorrhagic Stroke

Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Vladislav E. Zakharchenko,
Mikhail M. Kanarsky*, Marina V. Petrova, Ilya V. Borisov*

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

Для цитирования: А. М. Голубев, А. В. Гречко, В. Е. Захарченко, М. М. Канарский, М. В. Петрова, И. В. Борисов. Характеристика кандидатных молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 23–34. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-23-34> [На русск. и англ.]

For citation: Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Vladislav E. Zakharchenko, Mikhail M. Kanarsky, Marina V. Petrova, Ilya V. Borisov. Comparative characterization of candidate molecular markers in ischemic and hemorrhagic stroke. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanmatology*. 2021; 17 (5): 23–34. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-23-34> [In Russ. and Engl.]

Резюме

По данным эпидемиологических исследований ведущей причиной заболеваемости, инвалидности и смертности являются цереброваскулярные заболевания, в частности ишемический и геморрагический инсульты. В последние годы большое внимание уделяется исследованию молекулярных маркеров ишемического и геморрагического инсульта. Актуальность подобных исследований обусловлена тем, что специфические для мозга белковые биомаркеры нейронов, глиальных клеток могут предоставить ценную и своевременную диагностическую информацию, необходимую для принятия клинических решений.

Цель исследования — выявление различий содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови в остром, подостром и периоде раннего восстановления при ишемическом и геморрагическом инсультах.

Материал и методы. В исследование включили 59 пациентов. У 20 человек диагностировали геморрагический и у 39 человек — ишемический инсульт. В контрольную группу включили 20 добровольцев. Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острой стадии инсульта, в подострой стадии и стадии раннего восстановительного периода. Количественную оценку содержания молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа. Статистический анализ проводили непараметрическим методом Манна–Уитни.

Результаты. Содержание нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) у добровольцев контрольной группы составляло 574,5 [455,5; 615] pg/ml. Значимые статистические различия выявили для острого и подострого периодов геморрагического инсульта: 674 [560; 749] и 664 [616; 762] pg/ml ($p=0,003$ и $p=0,0001$).

Содержание нейрон-специфической енолазы, значимо увеличено во всех периодах исследования: контрольная группа 4,15 [3,53; 4,8] ng/ml, острый период ишемического инсульта 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml, ранний восстановительный период ишемического инсульта 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml, острый период геморрагического инсульта 5,1 [4,6; 6,4] ng/ml, подострый период геморрагического инсульта 664 [616; 762] ng/ml. Соответственно $p<0,001$, 0,001, 0,014, 0,003.

В контрольной группе содержание белка S-100 в сыворотке крови составило 4,5 [3,8; 5,4] ng/ml. В остром периоде и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте содержание белка S-100 статистически значимо снижалось: 4,1 [3,4; 4,6] и 3,9 [3,4; 6], $p<0,031$ и 0,014. Глиальный нейротрофический фактор был увеличен в остром и подостром периодах геморрагического инсульта: контроль 1,98 [1,64; 2,1], острый период 2,4 [2,2; 5], подострый период 2,4 [2,3; 2,6]. Соответственно $p=0,002$ и $<0,001$.

Адрес для корреспонденции:

*Илья Владимирович Борисов/E-mail: realzel@gmail.com
*Михаил Михайлович Канарский/E-mail: kanarmm@yandex.ru

Correspondence to:

*Ilya V. Borisov/E-mail: realzel@gmail.com
*Mikhail M. Kanarsky/E-mail: kanarmm@yandex.ru

Рецептор-1 фактора роста эндотелия (VEGFR-1) статистически значимо снижался в подостром периоде геморрагического инсульта: контроль 903,5 [626;1115], подострый период 485 [211; 945], ($p=0,001$),

Заключение. Выявили различия содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов при ишемическом и геморрагическом инсульте. В остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте, подостром периоде геморрагического инсульта отмечали возрастание содержания в сыворотке крови нейрон специфической енолазы. Содержание мозгового нейротрофического фактора значимо возрастало в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. В остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте снижалось содержание белка S-100. Содержание глиального нейротрофического фактора в остром и подостром периодах геморрагического инсульта возрастало. В подостром периоде геморрагического инсульта статистически значимо снижалось содержание рецептора-1 фактора роста эндотелия. Причем, его значение статистически значимо отличалось от значений в периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте.

Ключевые слова: молекулярные маркеры; ЦНС; инсульт ишемический; инсульт геморрагический

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Summary

According to epidemiological studies, the leading cause of morbidity, disability and mortality are cerebrovascular diseases, in particular ischemic and hemorrhagic strokes. In recent years considerable attention has been given to the study of molecular markers of ischemic and hemorrhagic strokes. These studies are relevant because brain-specific protein biomarkers of neurons and glial cells can provide valuable and timely diagnostic information necessary for clinical decision-making.

The aim of the study was to reveal the differences in the serum level of molecular markers in acute, subacute and early recovery periods of ischemic and hemorrhagic strokes.

Material and methods. The study included 59 patients. Twenty patients were diagnosed with hemorrhagic stroke and 39 had ischemic stroke. The control group included 20 volunteers. Serum levels of molecular CNS markers were determined in acute, subacute, and early recovery stages of stroke. The serum levels of CNS molecular markers of patients with ischemic and hemorrhagic stroke was measured quantitatively by enzyme immunoassay. Statistical analysis was performed by nonparametric Mann-Whitney method.

Results. The level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the control volunteers was 574.5 [455.5; 615] pg/ml. Significant differences were found for acute and subacute periods of hemorrhagic stroke: it was 674 [560; 749] pg/ml ($P=0.003$) and 664 [616; 762] pg/ml ($P=0.0001$).

The level of neuron-specific enolase was significantly increased in all periods of the study: it was 4.15 [3.53; 4.8] ng/ml in the control group, 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml in acute period of ischemic stroke ($P<0.001$), 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml in early recovery period of ischemic stroke ($P=0.001$), 5.1 [4.6; 6.4] ng/ml in acute period of hemorrhagic stroke ($P=0.014$), 664 [616; 762] ng/ml in subacute period of hemorrhagic stroke ($P=0.003$).

In the control group, the serum S-100 protein level was 4.5 [3.8; 5.4] ng/ml. In the acute and early recovery periods of ischemic stroke, S-100 protein level has significantly fallen down to 4.1 [3.4; 4.6] ng/ml ($P<0.031$) and 3.9 [3.4; 6] ng/ml ($P=0.014$), respectively. Glial-cell derived neurotrophic factor level was 1.98 [1.64; 2.1] ng/ml in the controls and increased up to 2.4 [2.2; 5] ng/ml ($P=0.002$) in the acute period and 2.4 [2.3; 2.6] ng/ml ($P<0.001$) in the subacute period of hemorrhagic stroke.

The vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) was significantly lower in the subacute period of hemorrhagic stroke: 485 [211; 945] pg/ml in the subacute period vs 903.5 [626; 1115] pg/ml in the controls ($P=0.001$).

Conclusion. We found differences in the serum level of molecular markers in patients with ischemic and hemorrhagic strokes. In the acute period, early recovery period of ischemic stroke, and subacute period of hemorrhagic stroke, there was an increase in the serum level of neuron-specific enolase. The level of brain-derived neurotrophic factor increased significantly in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In the acute and early recovery periods of ischemic stroke, the level of S-100 protein decreased. The level of glial cell-derived neurotrophic factor increased in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In the subacute period of hemorrhagic stroke, the level of endothelial growth factor receptor-1 significantly decreased. Moreover, there was significant difference between values of this parameter in the subacute period of hemorrhagic stroke and in the early recovery period of ischemic stroke.

Keywords: molecular markers; CNS; ischemic stroke; hemorrhagic stroke

Conflict of interest. Authors report no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-23-34

Введение

Цереброваскулярные заболевания являются одной из ведущих причин заболеваемости, инвалидности и смертности. В частности, заболеваемость ишемическим и геморрагическим

Introduction

Cerebrovascular diseases are among leading causes of morbidity, disability and mortality. In particular, the incidence of ischemic and hemorrhagic stroke in various countries remains high, as evi-

инфарктом в различных странах остается высокой, о чем свидетельствуют эпидемиологические исследования. В США был проведен анализ смертности от инфаркта за 2010–2016 годы среди взрослых среднего возраста (35–64 года) и пожилых людей (старше 65 лет). Установлено, что повышение смертности от инфаркта было более выражено среди людей среднего возраста по сравнению с пожилыми людьми [1].

Ретроспективный анализ данных по лечению более 520000 пациентов с инфарктом в Большом Манчестере и Лондоне в период с января 2008 г. по март 2016 г. выявил снижение смертности среди пациентов, получавших лечение в специализированных отделениях для лечения острого инфаркта. В отделениях, которые не были специализированы, снижения смертности не было выявлено [2].

В Швеции исследовали популяцию, которая состояла из 14125 пациентов, перенесших инфаркт в течение 2010 года. Полученные результаты показали, что 26% пациентов умерли в течение года после инфаркта. Почти 5% выживших перенесли повторный инфаркт, а 40% остались инвалидами [3].

Статистический анализ с учетом прогнозируемого старения населения свидетельствует о том, что количество первых инфарктов в Соединенном Королевстве увеличится к 2045 г. на 13% [4].

Данные по эпидемиологии инфаркта в Корее выявили, что каждый 40-й взрослый человек в стране является пациентом с инфарктом и 232 человека на 100000 населения ежегодно страдают от инфаркта. Среди 100 пациентов, перенесших инфаркт в 2014 году, у 76 был ишемический инфаркт, у 15 — внутримозговое кровоизлияние, а у девяти — субарахноидальное кровоизлияние. Смертность от инфаркта остается на уровне 30 смертей на 100 000 человек [5].

В последние годы большое внимание уделяется исследованию молекулярных маркеров ишемического и геморрагического инфарктов. Актуальность подобных исследований обусловлена тем, что специфические для мозга белковые биомаркеры нейронов, глиальных клеток (нейрон-специфическая енолаза (NSE), S100 кальций-связывающий белок, глиальный фибрillлярный кислый белок (GFAP)] и др.) [например, убиквитин C-концевая гидролаза-L1 (UCH-L1), продукты распада α II-спектрина SBDP120, SBDP145 и SBDP150, основной белок миелина (MBP), легкая цепь нейрофиламента (NF-L), тау-белок, визинин-подобный белок-1 (VLP 1), пептид NR2], которые обнаруживаются в спинномозговой жидкости и периферической крови, могут предоставить ценную и свое временную диагностическую информацию об инфаркте, необходимую для принятия решений.

denced by epidemiological studies. In the United States, a 2010–2016 analysis of stroke mortality among middle-aged adults (35–64 years old) and older adults (over 65 years old) has shown more significant increase in stroke mortality among middle-aged people compared to the elderly [1].

A retrospective analysis of treatment data of more than 520000 patients with stroke in Greater Manchester and London between January 2008 and March 2016 revealed a decrease in mortality among patients treated in specialized acute stroke units. In wards that were not specialized, no reduction in mortality was found [2].

In Sweden, a population of 14,125 patients who had a stroke during 2010 was studied. The results showed that 26% of patients died within a year of stroke onset. Almost 5% of survivors had a second stroke, and 40% remained disabled [3].

Statistical analysis based on projected aging of the population suggests that the number of first strokes in the United Kingdom will increase by 13% by 2045 [4].

Stroke epidemiology data in Korea showed that one in 40 adults in the country is a stroke patient and 232 persons per 100,000 population suffer a stroke each year. Among 100 stroke patients in 2014, 76 had ischemic stroke, 15 had intracerebral hemorrhage, and 9 had subarachnoid hemorrhage. The mortality rate from stroke remains at 30 deaths per 100,000 persons [5].

In recent years considerable emphasis has been placed on the study of molecular markers of ischemic and hemorrhagic strokes. The relevance of such studies is due to the fact that brain-specific protein biomarkers of neurons, glial cells (neuron-specific enolase (NSE), S100 calcium-binding protein, glial fibrillary acidic protein (GFAP)], etc.) [e.g., ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1), SBDP120, SBDP145 and SBDP150 α II-spectrin breakdown products, myelin basic protein (MBP), neurofilament light chain (NF-L), tau protein, visinin-like protein-1 (VLP 1), NR2 peptide], which are detected in cerebrospinal fluid and peripheral blood, can provide valuable and timely diagnostic information about stroke for decision-making. This information may include precise timing of stroke onset, stroke severity, prognosis of short- and long-term outcomes, and differential diagnosis between ischemic and hemorrhagic stroke [6].

Distinguishing between ischemic and hemorrhagic stroke is important for making diagnostic decisions and choosing treatment options. In particular, patients with ischemic stroke require intravenous thrombolysis, which is contraindicated in hemorrhagic stroke. Currently, computed tomography is used to diagnose hemorrhagic stroke. The use of biomarkers to rapidly rule out intracerebral hemorrhage may be useful in remote regions where transportation to the nearest CT scanner may take

Эта информация может включать уточнение сроков начала инсульта, его тяжесть, прогноз краткосрочных и долгосрочных результатов, дифференциально-диагностические признаки ишемического и геморрагического инсульта [6].

Выявление признаков, на основании которых отличают ишемию от геморрагического инсульта, является важным фактором, помогающим принимать диагностические решения и определять тактику лечения. В частности, пациентам с ишемическим инсультом необходим внутривенный тромболизис, который противопоказан при геморрагическом инсульте. В настоящее время для выявления геморрагического инсульта используется компьютерная томография. Использование биомаркеров для быстрого исключения внутримозгового кровоизлияния может быть полезно в отдаленных регионах, где транспортировка до ближайшего компьютерного томографа может занять несколько часов. В частности, ведущим кандидатом для выявления геморрагического инсульта является кислый глиальный фибрillлярный белок, локализующийся в астроглии [7]. Он обнаруживается в очень низких концентрациях в плазме здоровых людей, поскольку не секретируется активно клетками [8]. Однако быстрое повреждение глиальных клеток при геморрагическом инсульте вызывает высвобождение большого количества глиального белка в кровоток в течение нескольких минут. Учитывая, что некроз клеток при ишемическом инсульте формируется в течение определенного промежутка времени, разница в кинетике высвобождения кислого белка астроцитов может быть использована для дифференциальной диагностики геморрагического и ишемического инсульта [9].

Одновременное выявление глиальных и нейроноспецифических биомаркеров может быть полезным для дифференцировки острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому или геморрагическому типу [10].

Материал и методы

В исследование включили 59 пациентов. У 20 человек диагностировали геморрагический и у 39 человек — ишемический инсульт.

В группе ишемического инсульта выделили острый (4–21 сутки) и ранний восстановительный период (22 дня — 6 мес.). В группе пациентов с геморрагическим инсультом исследования проводили в течение острого (2–21 сутки) и подострого периодов (22 суток — 3 мес.).

В контрольную группу включили 20 условно здоровых добровольцев. Перед включением в исследование у добровольцев получили информированное согласие.

Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острой стадии инсультов (4–21 сутки), в

несколько часов. In particular, glial fibrillary acidic protein, localized in the astroglia, is a leading candidate for detection of hemorrhagic stroke [7]. It is found in very low concentrations in the plasma of healthy individuals because it is not actively secreted by cells [8]. However, rapid glial cell damage in hemorrhagic stroke causes the release of large amounts of this glial protein into the bloodstream within a few minutes. Considering that cell necrosis in ischemic stroke develops within a certain time interval, the changing levels of this acidic astrocyte protein can be used for differential diagnosis of hemorrhagic and ischemic stroke [9].

Simultaneous detection of glial and neuron-specific biomarkers may be useful in differentiating between acute ischemic or hemorrhagic brain accidents [10].

Materials and Methods

Fifty-nine patients were included in the study. Twenty patients were diagnosed with hemorrhagic stroke and 39 with ischemic stroke.

In ischemic stroke group we distinguished acute (4–21 days) and early recovery period (22 days to 6 months). In the group of patients with hemorrhagic stroke, the tests were performed during the acute (2–21 days) and subacute periods (22 days to 3 months).

Twenty apparently healthy volunteers were included in the control group. Informed consent was obtained from the volunteers before enrolment.

CNS molecular markers in blood serum were measured in the acute phase of stroke (4–21 days), in the subacute stage of hemorrhagic stroke and in the early recovery stage of ischemic stroke (22 days to 3 months). Quantitative assessment of the serum level of CNS molecular markers in patients with ischemic and hemorrhagic stroke was performed by enzyme immunoassay. The brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neuron-specific enolase (NSE), total protein S-100 ($\alpha\beta\beta\beta$), glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF), vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) were measured. CNS molecular markers were measured using an Immunomat TM automated microplate immunoassay.

The reagents used were CanAg NSE EIA FUJIREBIO (Sweden); R&D systems (USA); ABfrontier (Korea); Sekisui Medical CO (Japan); eBioscience (Austria); and Cayman Chemical (USA).

Statistical analysis was performed using STATISTICA 10 software (StatSoft Inc., США). Nominal data were described with absolute values and percentages. Quantitative data with normal distribution were combined into variation series, where the mean arithmetic values (M) and standard deviations (SD) were calculated. If the distribution was not normal, quantitative data were presented as median and quartiles (25–75% of the interquartile range). The Kolmogorov–Smirnov test was used to check the distribution for normality. When comparing the mean values in normally distributed variables in quantitative data analysis, the Student's t -test was used. Mann–Whitney U -test was used to compare two independent groups when the distribution of variables was not normal. Wilcoxon W -criterion was used to assess the significance of differences in quantitative variables for

подострой стадии геморрагического инсульта и стадии раннего восстановительного периода ишемического инсульта (22 суток — 3 мес.). Количественную оценку содержания молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа. Определяли нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейронспецифическую енолазу (NCE), белок S-100 общий ($\alpha\beta\beta\beta$), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), рецептор-1 фактора роста эндотелия (VEGFR-1). Молекулярные маркеры ЦНС выявляли с помощью автоматического микропланшетного иммуноферментного анализатора ImmunoMat TM.

Использовали реактивы фирм: CanAg NSE EIA «FUJIREBIO» (Швеция); «R&D systems» (США); «ABfrontier» (Корея); «Sekisui Medical CO» (Япония); «eBio-science» (Австрия); «Cayman chemical» (США).

Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 10 (разработчик — StatSoft.Inc). Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, объединяли в вариационные ряды, в которых проводили расчет средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). В случае отсутствия нормальности распределения количественные данные представили в виде медианы и квартилей (25–75% границы интерквартильного отрезка). Для проверки характера распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова. При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывали t -критерий Стьюдента. Для сравнения двух независимых групп в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовали U -критерий Манна–Уитни. Для анализа статистической значимости различий количественных признаков для двух зависимых выборок применялся W -критерий Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p<0.05$.

Статистически значимых различий между группами не выявили (табл. 1).

BDNF. Содержание мозгового нейротрофического фактора в крови добровольцев контрольной группы составило 574,5 [455,5; 615] pg/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание мозгового нейротрофического фактора незначительно снижалось до 524 [430; 676] pg/ml, а геморрагического инсульта возрастало до 674 [560; 749] pg/ml, что статистически значимо отличалось от результатов в контрольной группе ($p=0.003$). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание BDNF возросло до 547 [448; 667] pg/ml, а в под-

two dependent samples. Differences were considered significant at $P<0.05$.

No significant differences were found between the groups in baseline characteristics (Table 1).

BDNF. The level of brain-derived neurotrophic factor in the blood of control volunteers was 574.5 [455.5; 615] pg/ml. In the acute period of ischemic stroke, cerebral neurotrophic factor level slightly decreased to 524 [430; 676] pg/ml, and in hemorrhagic stroke increased to 674 [560; 749] pg/ml, which was significantly different from results in the control group ($P=0.003$). In the early recovery period of ischemic stroke, BDNF level increased to 547 [448; 667] pg/ml, and in the subacute period of hemorrhagic stroke, to 664 [616; 762] pg/ml.

NSE. The serum level of neuron-specific enolase in volunteers of the control group was 4.15 [3.53; 4.8] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, neuron-specific enolase level increased to 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml ($P<0.001$) and in acute period of hemorrhagic stroke to 5.1 [4.4; 6.4] ng/ml. In the early recovery period of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke, the values were 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml ($P<0.014$) and 5.8 [4.5; 6.3] ng/ml ($P<0.003$), respectively.

S-100 protein. The serum S-100 protein level in volunteers was 4.5 [3.8; 5.4] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, S-100 protein level was 4.1 [3.4; 4.6] ng/ml ($P=0.031$) and in that of hemorrhagic stroke it was 4.9 [4.6; 5.7] ng/ml ($P>0.05$). In the early recovery period of ischemic stroke, S-100 protein level was 3.9 [3.0; 4.6] ng/ml ($P<0.014$), and in the subacute period of hemorrhagic stroke, 4.7 [4.1; 6.2] ng/ml ($P>0.05$).

GDNF. The serum level of glial cell-derived neurotrophic factor in the control volunteers was 1.98 [1.64; 2.1] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, this parameter was 1.8 [1.6; 2.1] ng/ml ($P>0.05$), while in that of hemorrhagic stroke it was 2.4 [2.0; 2.5] ng/ml. In the early recovery period of ischemic stroke, the parameter was 1.9 [1.6; 1.9] ng/ml ($P>0.05$), and in the subacute period of hemorrhagic stroke, it reached 2.4 [2.3; 2.6] ng/ml ($P<0.001$).

VEGFR-1. The serum level of endothelial growth factor receptor-1 in control volunteers was 903.5 [626; 1115] pg/ml. In the acute period, these values were: for ischemic stroke, 1045 [505; 1440] pg/ml ($P>0.05$) and for hemorrhagic stroke, 772 [418; 1130] pg/ml ($P>0.05$). In the early recovery period of ischemic stroke, VEGFR-1 level was 987 [523; 1440] pg/ml, and while in the subacute stage of hemorrhagic stroke, it was 485 [211; 945] pg/ml ($P<0.006$).

The results of the tests are presented in Table 2.

Results and Discussion

BDNF. The brain-derived neurotrophic factor plays an important role in the protection of neu-

Таблица 1. Характеристика пациентов по возрасту и полу.
Table 1. Patients' sex and age characteristics.

| Patient group | Sex, n (%) | | Age |
|--------------------------|---|---------|-----------|
| | male | female | |
| Control, n=20 | 10 (50) | 10 (50) | 58.4±5.9 |
| Ischemic stroke, n=39 | 19 (49) | 20 (51) | 58.9±12.9 |
| Hemorrhagic stroke, n=20 | 10 (50) | 10 (50) | 53.4±9.7 |
| Page | P Ischemic vs control > 0.05; P hemorrhagic vs control > 0.05 | | |

Примечание. Patient group — группа пациентов; sex — пол; male — мужской; female — женский; age — возраст.
Для табл. 1, 2: Ischemic/hemorrhagic stroke — ишемический/геморрагический инсульт.

стром периоде геморрагического инсульта — до 664 [616; 762] pg/ml.

NSE. Содержание нейронспецифической енолазы в сыворотке крови добровольцев контрольной группы составило 4,15 [3,53; 4,8] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание нейронспецифической енолазы возросло до 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml ($p<0,001$, а геморрагического инсульта — 5,1 [4,4; 6,4]. В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта и подостром периоде геморрагического инсульта показатели соответственно были равны 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml ($p<0,014$) и 5,8 [4,5; 6,3] ng/ml ($p<0,003$).

Белок S-100. Содержание белка S-100 в сыворотке крови добровольцев составило 4,5 [3,8; 5,1] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание белка S-100 составляло 4,1 [3,4; 4,6] ng/ml ($p=0,031$), а при геморрагическом инсульте — 4,9 [4,6; 5,7] ng/ml ($p>0,05$). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание белка S-100 составило 3,9 [3,0; 4,6] ng/ml ($p<0,014$), а в подостром периоде геморрагического инсульта — 4,7 [4,1; 6,2] ng/ml ($p>0,05$).

GDNE. Содержание глиального нейротрофического фактора в сыворотке крови добровольцев контрольной группы равнялось 1,98 [1,64; 2,1] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта этот показатель составил 1,8 [1,6; 2,1] ng/ml ($p>0,05$), а геморрагического инсульта — 2,4 [2,0; 2,5] ng/ml. В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта показатель равен 1,9 [1,6; 1,9] ng/ml ($p>0,05$), а в подостром периоде геморрагического инсульта — 2,4 [2,3; 2,6] ng/ml ($p<0,001$).

VEGFR-1. Содержание в сыворотке крови добровольцев контрольной группы рецептора-1 фактора роста эндотелия было равным 903,5 [626; 1115] pg/ml. В остром периоде эти показатели составляли: для ишемического инсульта — 1045 [505; 1440] pg/ml ($p>0,05$) и для геморрагического инсульта — 772 [418; 1130] pg/ml ($p>0,05$). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание фактора роста эндотелия составляло 987 [523; 1440] pg/ml, а в подострой стадии геморрагического инсульта — 485 [211; 945] pg/ml ($p<0,006$).

Результаты исследований представили в табл. 2.

Результаты и обсуждение

BDNF. Мозговой нейротрофический фактор играет важную роль в защите нейронов при воздействии повреждающих факторов. Данные литературы свидетельствуют о важности его исследования при острых нарушениях мозгового кровообращения. В частности, исследована взаимосвязь между уровнем BDNF в сыворотке крови, фракционной анизотропией (ФА) и функциональным результатом во время реабилитации после острого инсульта. Результаты исследования показывают, что уровень BDNF в сыворотке может коррелировать с ФА [11].

В проспективном исследовании, в которое было включено 208 пациентов с первым инсультом в возрасте от 18 до 75 лет, изучали влияние факторов риска на содержание BDNF. Оно значительно снижается при остром инсульте.

rons exposed to damaging factors. Published evidence demonstrates the importance of its measurement in acute cerebrovascular accidents. In particular, the relationship between serum BDNF level, fractional anisotropy (FA) and functional outcome during rehabilitation after acute stroke was investigated. The results of the study show that serum BDNF level can correlate with FA [11].

A prospective study of 208 patients with a first stroke between 18 and 75 years of age examined the effect of risk factors on BDNF level. It decreases significantly in acute stroke. The risk factors negatively affect BDNF levels (diabetes mellitus, $P=0,001$; alcoholism, $P=0,003$; hypertension, $P=0,002$; smoking, $P=0,001$) [12].

A study to elucidate the role of BDNF during early recovery after ischemic stroke using motor training was carried out. Fifty ischemic stroke patients were included in the study. The serum BDNF was measured in 50 healthy subjects who served the control group. BDNF levels were found to increase significantly during the motor rehabilitation phase. Untreated patients had significantly lower BDNF levels at the endpoint [13].

According to recent studies, BDNF is an important predictor of improved mobility after stroke. The aim of this prospective study was to evaluate the BDNF blood level during day 1 of the first ischemic stroke and to find a potential relationship between BDNF concentration and neurological status in the acute period, as well as between BDNF and functional status in the subacute phase of stroke. The prospective study involved 87 patients aged 39–99 years (42 women, 45 men) with a first-ever ischemic stroke. In all subjects the following assessments were done: blood BDNF level and neurological status according to NIHSS on day 1 of stroke, comorbidities, etiological type of ischemic stroke by ASCOD, and functional status on days 14 and 90 after onset using the modified Rankin (mRankin) scale for neurologic disability. Neurological status and BDNF level on day 1 of ischemic stroke were found to be independent prognostic factors at mid-term follow-up. Decreased BDNF level in the acute phase of stroke is a poor prognostic factor with respect to the functional status of patients on day 90 from the onset of the disease [14].

In our study we found significant differences in the level of brain-derived neurotrophic factor in blood serum between the control group and patients in acute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

NSE and S-100 protein. A meta-analysis examining the clinical value of serum neuron-specific enolase (NSE) and soluble human-100 β protein (S-100 β) in patients with acute cerebral infarction (ACI) included 13 case-control studies involving 911 patients with ACI and 686 healthy controls. Results of the meta-analysis showed that NSE and S-100 β lev-

Таблица 2. Содержание молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом.**Table 2. The levels of molecular markers in the serum of patients with ischemic and hemorrhagic stroke.**

| Molecular marker | Groups | | | | | P value | |
|----------------------|-------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | ¹ Controls n=20 | Ischemic stroke, n=39 | | Hemorrhagic stroke, n=20 | | | |
| | | ² Acute period (days 4–21) | ³ Early recovery period (day 22 — 6 months) | ⁴ Acute period (days 2–21) | ⁵ Subacute period (day 22 — 3 months) | | |
| BDNF, pg/ml | 574.5 [455.5; 615] | 524 [430; 676] | 547 [448; 667] | 674 [560; 749] | 664 [616; 762] | $P_{1-2}>0.05$ $P_{1-3}>0.05$ $P_{1-4}=0.003$ $P_{1-5}=0.0001$ | |
| NSE, ng/ml | 4.15 [3.53; 4.8] | 5.4 [4.4; 6.4] | 5.4 [4.4; 6.4] | 5.1 [4.4; 6.4] | 5.8 [4.5; 6.3] | $P_{1-2}<0.001$ $P_{1-3}<0.001$ $P_{1-4}=0.014$ $P_{1-5}=0.003$ | |
| S-100 protein, ng/ml | 4.5 [3.8; 5.4] | 4.1 [3.4; 4.6] | 3.9 [3; 4.6] | 4.9 [4.6; 5.7] | 4.7 [4.1; 6.2] | $P_{1-2}=0.031$ $P_{1-3}=0.014$ $P_{1-4}>0.05$ $P_{1-5}>0.05$ | |
| GDNF, ng/ml | 1.98 [1.64; 2.1] | 1.8 [1.6; 2.1] | 1.9 [1.6; 1.9] | 2.4 [2; 2.5] | 2.4 [2.3; 2.6] | $P_{1-2}>0.05$ $P_{1-3}>0.05$ $P_{1-4}=0.002$ $P_{1-5}<0.001$ | |
| VEGFR-1, pg/ml | 903.5 [626; 1115] | 1045 [505; 1440] | 987 [523; 1440] | 772 [418; 1130]* | 485 [211; 945]* | $P_{1-2}>0.05$ $P_{1-3}>0.05$ $P_{1-4}>0.05$ $P_{1-5}<0.006$ | |

Note. * — significant intergroup difference, $P<0.05$.

Примечание. Acute — острый; early recovery — раннего восстановления; subacute — подострый; BDNF — мозговой нейротрофический фактор; NSE — нейронспецифическая енолаза; GDNF — глиальный нейротрофический фактор; VEGFR-1 — рецептор-1 фактора роста эндотелия. * — при межгрупповом сравнении имеет место значимое различие значений за аналогичный период, $p<0.05$.

Факторы риска отрицательно влияют на уровень BDNF (диабет, $p=0.001$; алкоголизм, $p=0.003$; гипертония, $p=0.002$; курение, $p=0.001$) [12].

Проведено исследование, направленное на выяснение роли BDNF во время раннего восстановления после ишемического инсульта с помощью двигательной тренировки. В исследование были включены 50 пациентов, перенесших ишемический инсульт. Для сравнения сывороточный BDNF был измерен у 50 здоровых людей. Было обнаружено, что уровни BDNF значительно увеличиваются во время фазы двигательной реабилитации. У не леченных пациентов в конечной точке уровень BDNF был значительно ниже [13].

Согласно недавним исследованиям, нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) имеет большое значение для прогноза улучшения подвижности после инсульта. Целью этого проспективного исследования было оценить концентрацию BDNF в крови в течение 1-го дня первого ишемического инсульта и найти потенциальную связь между концентрацией BDNF и неврологическим статусом в остром периоде, а также между BDNF и функциональным статусом в подострой фазе инсульта. В проспективном исследовании участвовали 87 пациентов в возрасте 39–99 лет (42 женщины, 45 мужчин) с первым в жизни ише-

els were significantly higher in patients with ACI than in controls. Subgroup analysis based on ethnicity showed that serum concentrations of NSE and S-100 β were significantly higher in patients with ACI than in controls in the Asian population. In the European population, the serum NSE level in the case group was significantly higher than in the control group, but there were no significant differences between patients with ACI and controls. Based on these results, the serum NSE and S-100 β levels strongly correlated with ACI in the Asian population and could be important clinical markers for the diagnosis and treatment of ACI [15].

The diagnostic value of total tau protein (T-tau), calcium-binding protein S100B and neuron-specific enolase (NSE) as blood biomarkers in acute ischemic stroke (AIS) and transient ischemic attack (TIA) was analyzed to identify correlation with symptoms and signs, brain infarction size, etiology and outcome. 102 patients with stroke and 35 with TIA were analyzed. T-tau was found to be higher in patients with stroke. S100B levels were also increased in stroke patients compared with TIA patients. However, when the results were adjusted for distorting factors, their significance was lost. T-tau and S100B levels significantly correlated with cerebral infarct volume. The mRS scores after three months of follow-up correlated with T-tau and S100B levels [16].

мическим инсультом. У всех испытуемых был проведен следующий анализ: концентрация BDNF в крови и неврологический статус по NIHSS в 1-й день инсульта, сопутствующие заболевания, этиологический тип ишемического инсульта по ASCOD и функциональный статус на 14-й и 90-й день после начала по шкале mRankin. Установлено, что неврологический статус и содержание BDNF в 1-й день ишемического инсульта являются независимыми прогностическими факторами при среднесрочном наблюдении. Снижение концентрации BDNF в острой фазе инсульта является фактором плохого прогноза с точки зрения функционального статуса пациентов на 90-е сутки от начала заболевания [14].

В наших наблюдениях установлены статистически значимые различия содержания мозгового нейротрофического фактора в сыворотки крови между группой контроля и возрастанием его содержания в остром и подостром периодах геморрагического инсульта.

NSE и Белок S-100. Мета-анализ по исследованию клинической ценности содержания в сыворотке нейрон-специфической энолазы (NSE) и растворимого белка человека-100 β (S-100 β) у пациентов с острым инфарктом головного мозга (ACI) включал 13 исследований случай-контроль, в которых участвовали 911 пациентов с ОКИ и 686 здоровых людей из контрольной группы. Результаты метаанализа показали, что концентрация NSE и S-100 β у пациентов с ОКИ была значительно выше, чем в контрольной группе. Анализ подгрупп, основанный на этнической принадлежности, показал, что сывороточная концентрация NSE и S-100 β у пациентов с ОКИ была значительно выше, чем в контрольной группе в азиатской популяции. В европейской популяции сывороточная концентрация NSE в группе случаев была значительно выше, чем в контрольной группе, но не наблюдалось значительных различий между пациентами с ACI и контрольной группой. Основываясь на полученных результатах, сделано заключение, что концентрации NSE и S-100 β в сыворотке сильно коррелируют с ACI в азиатской популяции и могут быть важными клиническими маркерами для диагностики и лечения ACI [15].

Проведен анализ диагностической ценности общего тау-белка (T-tau), кальций-связывающего белка S100B и нейрон-специфической энолазы (NSE) в качестве биомаркеров крови при остром ишемическом инсульте (AIS) и транзиторной ишемической атаке (ТИА) с целью выявления корреляции с симптомами, размером инфаркта мозга, этиологией и исходом. Проанализировано 102 пациента с инсультом и 35 с ТИА. Результаты: T-tau был выше у

In order to predict the short-term outcome of acute ischemic stroke, somatosensory evoked potentials (SEP) and biochemical parameters [neuron-specific enolase (NSE) and S100 protein] were analyzed in a prospective study. In 31 patients with first middle cerebral artery infarction, serum NSE and S100 protein were measured daily between 1 and 6 days after stroke. The N20 and N70 components of SEP (SEP20 and SEP70) were determined on days 1 and 6. SEP and biochemical markers in stroke patients were compared with those in controls. Specificity and positive predictive value were high at day 1 for SEP (SEP20: 100% for both; SEP70: 93 and 88%, respectively) compared with lower values for NSE (67 and 50%) and S100 (23 and 57%). In contrast, S100 showed the highest sensitivity on day 1 with 77% versus the relatively low sensitivity of NSE (31%) and SEP (35% for SEP20 and 47% for SEP70). Biochemical markers showed improved sensitivity over time with better values (>90%) between days 3 and 4. SEP analysis can distinguish a positive outcome from an unfavorable one early in the course of disease and reliably predict a poor outcome. Since biochemical markers and SEP complement each other in stroke prognosis, the combined use of these markers is promising [17]

Our findings showed significant differences in neuron-specific enolase level between the control group and patients with the acute stages of ischemic and hemorrhagic stroke, as well as the early recovery stage of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke. The level of S-100 protein significantly decreased in the acute and early recovery period of ischemic stroke.

GDNF. The glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) has a strong neuroprotective effect in various diseases of the nervous system, including ischemic brain damage and neurodegenerative diseases. The effect of GDNF on the ultrastructure and functional activity of neuron-glia networks during acute hypoxia was studied. Hypoxia simulation was performed on day 14 of cultivation of primary hippocampal cells derived from mouse embryos (E18). GDNF (1 ng/ml) was added to the culture medium 20 min before oxygen deprivation. Irreversible changes in the ultrastructure of neurons and astrocytes caused by acute hypoxia resulted in loss of functional Ca²⁺ activity and disruption of the neuronal network. Destructive changes in mitochondria and their functional activity, characterized by an increase in basal oxygen consumption rate and complex II respiratory chain activity with a decrease in stimulated respiration intensity, were observed 24 hours after hypoxic injury. At a concentration of 1 ng/ml, GDNF maintained the functional activity of the metabolic network in primary hippocampal cultures and preserved the structure of the synaptic apparatus and the number of mature chemical synapses, confirming its neu-

пациентов с инсультом. Концентрации S100B также были увеличены у пациентов с инсультом по сравнению с пациентами с TIA. Однако, когда результаты были скорректированы с учетом искажающих факторов, их значение было потеряно. Концентрации T-tau и S100B статистически значимо коррелировали с объемом инфаркта головного мозга. Показатели mRS через три месяца наблюдения коррелировали с T-tau и концентрацией S100B [16].

В целях прогнозирования краткосрочного исхода острого ишемического инсульта проведен анализ соматосенсорных вызванных потенциалов (SEP) и биохимических параметров [нейрон-специфическая енолаза (NSE) и белок S100] в проспективном исследовании. У 31 пациента с 1-м инфарктом средней мозговой артерии сывороточный NSE и белок S100 измеряли ежедневно между 1- и 6-м днями после инсульта. Компоненты N20 и N70 SEP (SEP20 и SEP70) определяли в дни 1 и 6. SEP и биохимические маркеры у пациентов с инсультом сравнивали с таковыми в контрольной группе. Специфичность и положительная прогностическая ценность были высокими в день 1 для SEP (SEP20: 100% для обоих; SEP70: 93 и 88% соответственно) по сравнению с более низкими значениями для NSE (67 и 50%) и S100 (23 и 57%). Напротив, S100 показал наивысшую чувствительность в день 1 с 77% по сравнению с относительно низкой чувствительностью NSE (31%) и SEP (SEP20: 35%, SEP70: 47%). Биохимические маркеры показали улучшение чувствительности с течением времени с лучшими значениями (>90%) между 3-м и 4-м днями. Анализ SEP может на раннем этапе отличить позитивный результат от неблагоприятного и надежно предсказать плохой результат. Поскольку биохимические маркеры и SEP дополняют друг друга в прогнозе инсульта, комбинированное применение этих маркеров является перспективным [17].

Данные наших исследований свидетельствуют о статистически значимых различиях содержания нейрон-специфической енолазы между группой контроля и возрастанием ее содержания в острых стадиях ишемического и геморрагического инсульта, а также стадией раннего восстановления при ишемическом инсульте и подострым периодом геморрагического инсульта. Содержание белка S-100 статистически значимо снижалось в остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте.

GDNF. Нейротрофический фактор, полученный из глиальных клеток (GDNF), оказывает выраженное нейропротекторное действие при различных заболеваниях нервной системы, включая ишемическое повреждение мозга и нейродегенеративные заболевания. Изучено

ропротективное действие и поддержание нормальной структуры митохондрий. Анализ возможного механизма действия GDNF показал, что киназа RET, компонент рецепторного комплекса, и PI3K/Akt путь являются критически важными для нейропротективного действия GDNF. Настоящее исследование также выявило роль GDNF в регуляции экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α при гипоксии [18].

Astrocytes, oligodendrocytes and microglia play an important role in regulating processes in the physiological state and in diseases of CNS. After discovering that the addition of conditioned medium from astrocyte cultures can support the survival of primary neurons in vitro, a potent glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) was identified. The relationship between neurotrophic factor and glia is crucial for both the developing and adult brain. BDNF and GDNF have been found to be important for glia-mediated synapse formation [19].

VEGFR-1. The vascular endothelial growth factor receptor -1 plays an essential role in the regulation of VEGF function. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is involved in various mechanisms of brain damage and repair in cerebrovascular accidents. Patients with acute ischemic stroke with higher serum VEGF levels and larger brain infarct volume were found to be more likely to develop post stroke cognitive impairment (PSCI) 3 months after the stroke. [20].

Excessive VEGF disrupts intracellular barriers, increases vascular plexus endothelial permeability, causes edema, and contributes to hydrocephalus and subarachnoid hemorrhage. [21]. The inhibitory functions of miR-145 on angiogenesis through a direct effect on VEGF-A were revealed for the first time [22]. The spatial organization of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling is a key factor in vascular pattern formation during tissue development and repair. The importance of astrocytes in controlling VEGF functions to influence angiogenesis processes was emphasized [23]. Although plasma VEGF level increases after stroke onset, its importance for functional outcome may differ depending on stroke subtypes [24]. The VEGF/VEGFR signaling system, originally found in the vascular system and acting specifically there, is critical for neural development, neural homeostasis, and recovery from neuronal damage [25].

In recent years, several diagnostic panels have been proposed to diagnose stroke and predict its outcome [26, 27].

A panel of 5 protein markers selected from more than 50 proteins [S100B, B-type neurotrophic growth factor (BNDF), von Willebrand factor (vWF), MMP-9, monocyte chemotactic protein-1] was evaluated in 223 patients with acute stroke (82 ischemic, 103 hemorrhagic) and 214 healthy subjects. Plasma samples were examined within 6 hours after stroke onset. In this study a biomarker

влияние GDNF на ультраструктуру и функциональную активность нейронно-глиальных сетей во время острого гипоксического воздействия. Моделирование гипоксии выполняли на 14-й день культивирования первичных клеток гиппокампа полученных из эмбрионов мыши (E18). GDNF (1 нг/мл) добавляли в культуральную среду за 20 мин до кислородного голодаания. Не обратимые изменения ультраструктуры нейронов и астроцитов, вызванные острой гипоксией, приводили к потере функциональной активности Ca^{2+} и нарушению работы нейронной сети. Деструктивные изменения митохондриального аппарата и его функциональной активности, характеризующиеся увеличением базальной скорости потребления кислорода и активности комплекса II дыхательной цепи при снижении интенсивности стимулированного дыхания, наблюдались через 24 часа после гипоксического повреждения. В концентрации 1 нг/мл GDNF поддерживал функциональную активность метаболической сети в первичных культурах гиппокампа, и сохранял структуру синаптического аппарата и количество зрелых химических синапсов, подтверждая его нейропротекторный эффект, поддерживал нормальную структуру митохондрий. Анализ возможного механизма GDNF показал, что киназа RET, компонент рецепторного комплекса, и путь PI3K/Akt имеют решающее значение для нейропротекторного эффекта GDNF. Настоящее исследование также выявило роль GDNF в регуляции экспрессии фактора транскрипции HIF-1 α в условиях гипоксии [18].

Астроциты, олигодендроциты и микроглия играют важную роль в регулировании процессов в физиологическом состоянии и при заболеваниях ЦНС. После того, как было обнаружено, что добавление кондиционированной среды из культур астроцитов может поддерживать выживание первичных нейронов *in vitro*, был обнаружен мощный нейротрофический фактор глиальных клеток (GDNF). Отношения между NTF и глией имеют решающее значение как для развивающегося, так и для взрослого мозга. Установлено, что BDNF и GDNF важны для опосредованного глией образования синапсов [19].

VEGFR-1. Рецептор-1 фактора роста эндотелия сосудов играет важную роль в регуляции функционирования VEGF. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) участвует в различных механизмах повреждения и восстановления мозга при острых нарушениях мозгового кровообращения.. Установлено, что у пациентов с острым ишемическим инсультом с более высоким уровнем сывороточного VEGF и большим объемом инфаркта мозга с большей веро-

panel distinguished patients with stroke from healthy control with a sensitivity of 92% and a specificity of 93% [28].

Principles of personalized medicine should be considered when studying molecular biomarkers in stroke. Various aspects such as stage of disease, age, lifestyle factors, and stroke subtypes could be important in the context of identifying stroke biomarkers. With the advent of omics, neuroimaging, big data and precision medicine, well-designed trials of stroke biomarkers will greatly improve the treatment of the disease, which affects millions of people worldwide each year [29].

Conclusion

Our study revealed different levels of molecular markers in the acute period of ischemic and hemorrhagic stroke, the early recovery period of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke. In the acute period, the early recovery period of ischemic stroke, and the subacute period of hemorrhagic stroke there is an increase in the serum level of specific neuron enolase. The serum level of cerebral neurotrophic factor rises significantly in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In acute and early recovery period of ischemic stroke the level of S-100 protein decreases. The level of glial cell-derived neurotrophic factor increases in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. The concentration of endothelial growth factor receptor-1 decreases significantly in the subacute period of hemorrhagic stroke, and its value significantly differs from that in the early recovery period of ischemic stroke.

ятностью развиваются когнитивные нарушения (PSCI) через 3 месяца после инсульта. [20].

Чрезмерное содержание VEGF нарушает внутриклеточные барьеры, увеличивает проницаемость эндотелия сосудистого сплетения, вызывает отек, способствует развитию гидроцефалии и субарахноидальных кровоизлияний [21]. Впервые выявлены ингибирующие функции miR-145 на ангиогенез посредством прямого влияния на VEGF-A [22]. Пространственная организация передачи сигналов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) является ключевым фактором формирования паттерна сосудов во время развития и восстановления тканей. Подчеркивается важность астроцитов в управлении функциями VEGF для влияния на процессы ангиогенеза [23]. Несмотря на то, что содержание VEGF в плазме увеличивается после начала инсульта, его значение для функционального результата может быть различным для подтипов инсульта [24]. Система передачи сигналов VEGF/VEGFR, первоначально

обнаруженная в сосудистой системе и действующая конкретно в сосудистой системе, играет важную роль в нервном развитии, нервном гомеостазе и восстановлении после повреждения нейронов [25].

В последние годы предложен ряд диагностических панелей для диагностики и прогнозирования исхода инсульта [26, 27].

Проведена оценка панели из 5 белковых маркеров, отобранных более чем из 50 белков (S100B, фактор нейротрофного роста В-типа (BNGF), фактор фон Виллебранда (vWF), MMP-9, хемотаксический белок моноцитов-1) у 223 пациентов с острым инсультом (82 ишемических, 103 геморрагический) и 214 здоровых людей. Образцы плазмы исследовали в течение 6 часов после начала инсульта. Инсульт отличался от контроля с чувствительностью 92% и специфичностью 93% [28].

В исследовании молекулярных биомаркеров при инсульте необходимо учитывать принципы персонализированной медицины. Обсуждаются условия в определении биомаркеров инсульта, включая этапы развития заболевания, с учетом возраста, факторов образа жизни и подтипов инсульта. С появлением «-омических» исследований, нейровизуализации, больших данных и точной медицины хорошо спланированные испытания биомаркеров инсульта значительно улучшают лечение болезни, от кото-

рой ежегодно страдают миллионы людей во всем мире [29].

Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют о различиях в содержании молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте в остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте и подостром периоде геморрагического инсульта. В остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте, подостром периоде геморрагического инсульта отмечается возрастание содержания в сыворотке крови белка нейрон-специфической енолазы. Содержание мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови достоверно возрастает в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. В остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте снижается содержание белка S-100. Возрастает содержание глиального нейротрофического фактора в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. Статистически значимо в подостром периоде геморрагического инсульта снижается содержание рецептора-1 фактора роста эндотелия. Причем, его значение статистически значимо отличается от значений периода раннего восстановления ишемического инсульта.

Литература

1. Hall E. W., Vaughan A. S., Ritchey M. D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.026695
2. Morris S., Ramsay A., Boaden R.J., Hunter R.M., McEvitt C., Paley L., Perry C., Rudd A.G., Turner S.J., Tyrrell P.J., Wolfe C., Fulop N.J. Impact and sustainability of centralising acute stroke services in English metropolitan areas: retrospective analysis of hospital episode statistics and stroke national audit data. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2019; 364: ll. DOI: 10.1136/bmj.l1
3. Lekander I., Willers C., Ekstrand E., von Euler M., Fagervall-Ytting B., Henricson L., Kostulas K., Lilja M., Sunnerhagen K.S., Teichert J., Pes-sah-Rasmussen H. Hospital comparison of stroke care in Sweden: a register-based study. *BMJ open*. 2017; 7 (9): e015244. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015244
4. Li L., Scott C.A., Rothwell P.M., Oxford Vascular Study. Trends in Stroke Incidence in High-Income Countries in the 21st Century: Population-Based Study and Systematic Review. *Stroke*. 2020; 51 (5): 1372–1380. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.028484
5. Kim J.Y., Kang K., Kang J., Koo J., Kim D.H., Kim B.J., Kim W.J., Kim E.G., Kim J.G., Kim J.M., Kim J.T., Kim C., Nah H.W., Park K.Y., Park M.S., Park J.M., Park J.H., Park T.H., Park H.K., Seo W.K., Bae H.J. Executive Summary of Stroke Statistics in Korea 2018: A Report from the Epidemiology Research Council of the Korean Stroke Society. *Journal of stroke*. 2019; 21 (1): 42–59. DOI: 10.5853/jos.2018.03125
6. Glushakova O.Y., Glushakov A.V., Miller E.R., Valadka A.B., Hayes R.L. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain circulation*. 2016; 2 (1), 28–47. DOI: 10.4103/2394-8108.178546
7. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochemical research*. 2000; 25 (9–10): 1439–1451. DOI: 10.1023/a:1007677003387
8. Missler U., Wiesmann M., Wittmann G., Magerkurth O., Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clinical chemistry*. 1999; 45 (1): 138–141.
9. Brunkhorst R., Pfeilschifter W., Foerch C. Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhage-pathophysiological background and clinical findings. *Translational stroke research*. 2010; 1 (4): 246–251. DOI: 10.1007/s12975-010-0040-6
10. Hall E. W., Vaughan A. S., Ritchey M. D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.026695
11. Morris S., Ramsay A., Boaden R.J., Hunter R.M., McEvitt C., Paley L., Perry C., Rudd A.G., Turner S.J., Tyrrell P.J., Wolfe C., Fulop N.J. Impact and sustainability of centralising acute stroke services in English metropolitan areas: retrospective analysis of hospital episode statistics and stroke national audit data. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2019; 364: ll. DOI: 10.1136/bmj.l1
12. Lekander I., Willers C., Ekstrand E., von Euler M., Fagervall-Ytting B., Henricson L., Kostulas K., Lilja M., Sunnerhagen K.S., Teichert J., Pes-sah-Rasmussen H. Hospital comparison of stroke care in Sweden: a register-based study. *BMJ open*. 2017; 7 (9): e015244. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015244
13. Li L., Scott C.A., Rothwell P.M., Oxford Vascular Study. Trends in Stroke Incidence in High-Income Countries in the 21st Century: Population-Based Study and Systematic Review. *Stroke*. 2020; 51 (5): 1372–1380. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.028484
14. Kim J.Y., Kang K., Kang J., Koo J., Kim D.H., Kim B.J., Kim W.J., Kim E.G., Kim J.G., Kim J.M., Kim J.T., Kim C., Nah H.W., Park K.Y., Park M.S., Park J.M., Park J.H., Park T.H., Park H.K., Seo W.K., Bae H.J. Executive Summary of Stroke Statistics in Korea 2018: A Report from the Epidemiology Research Council of the Korean Stroke Society. *Journal of stroke*. 2019; 21 (1): 42–59. DOI: 10.5853/jos.2018.03125
15. Glushakova O.Y., Glushakov A.V., Miller E.R., Valadka A.B., Hayes R.L. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain circulation*. 2016; 2 (1), 28–47. DOI: 10.4103/2394-8108.178546
16. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochemical research*. 2000; 25 (9–10): 1439–1451. DOI: 10.1023/a:1007677003387
17. Missler U., Wiesmann M., Wittmann G., Magerkurth O., Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clinical chemistry*. 1999; 45 (1): 138–141.
18. Brunkhorst R., Pfeilschifter W., Foerch C. Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhage-pathophysiological background and clinical findings. *Translational stroke research*. 2010; 1 (4): 246–251. DOI: 10.1007/s12975-010-0040-6

Clinical Studies

10. Kamtchum-Tatuene J., Jickling G.C. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular medicine*. 2019; 21 (4): 344–368. DOI: 10.1007/s12017-019-08530-0
11. Luo W., Liu T., Li S., Wen H., Zhou F., Zafonte R., Luo X., Xu M., Black-Schaffer R., Wood L.J., Wang Y., Wang Q.M. The Serum BDNF Level Offers Minimum Predictive Value for Motor Function Recovery After Stroke. *Translational stroke research*. 2019; 10 (4): 342–351. DOI: 10.1007/s12975-018-0648-5
12. Chaturvedi P., Singh A.K., Tiwari V., Thacker A.K. Brain-derived neurotrophic factor levels in acute stroke and its clinical implications. *Brain circulation*. 2020; 6 (3): 185–190. DOI: 10.4103/bc.b_23_20
13. Koroleva E.S., Tolmachev I.V., Alifirova V.M., Boiko A.S., Levcuk L.A., Loonen A., Ivanova S.A. Serum BDNF's Role as a Biomarker for Motor Training in the Context of AR-Based Rehabilitation after Ischemic Stroke. *Brain sciences*. 2020; 10 (9): 623. DOI: 10.3390/brainsci10090623
14. Lasek-Bal A., Jędrzejowska-Szypulka H., Różyska J., Bal W., Holecki M., Dulawa J., Lewin-Kowalik J. Low Concentration of BDNF in the Acute Phase of Ischemic Stroke as a Factor in Poor Prognosis in Terms of Functional Status of Patients. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 3900–3905. DOI: 10.12659/msm.895358
15. Li K., Jia J., Wang Z., Zhang S. Elevated Serum Levels of NSE and S-100B Correlate with Increased Risk of Acute Cerebral Infarction in Asian Populations. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 1879–1888. DOI: 10.12659/msm.893615
16. Onatsu J., Vanninen R., Jäkälä P., Mustonen P., Pulkki K., Korhonen M., Hedman M., Höglund K., Blennow K., Zetterberg H., Herukka S.K., Taina M., Tau, S100B and NSE as Blood Biomarkers in Acute Cerebrovascular Events. *In vivo (Athens, Greece)*. 2020; 34 (5): 2577–2586. DOI: 10.21873/invivo.12075
17. Haupt W.F., Chopan G., Sobesky J., Liu W.C., Dohmen C. Prognostic value of somatosensory evoked potentials, neuron-specific enolase, and S100 for short-term outcome in ischemic stroke. *Journal of neurophysiology*. 2016; 115 (3): 1273–1278. DOI: 10.1152/jn.01012.2015
18. Mitroshina E.V., Mishchenko T.A., Shirokova O.M., Astrakhanova T.A., Loginova M.M., Epifanova E.A., Babaev A.A., Tarabykin V.S., Vedunova M.V. Intracellular Neuroprotective Mechanisms in Neuron-Glia Networks Mediated by Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019; 2019: 1036907. DOI: 10.1155/2019/1036907
19. Pöyhönen S., Er S., Domanskyi A., Airavaara M. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 486. DOI: 10.3389/fphys.2019.00486
20. Prodjohardjono A., Vidyanti A.N., Susanti N.A., Sudarmanta-Sutarni S., Setyopranoto I. Higher level of acute serum VEGF and larger infarct volume are more frequently associated with post-stroke cognitive impairment. *Plos one*. 2020; 15 (10): e0239370. DOI: 10.1371/journal.pone.0239370
21. Shim J.W., Madsen J.R. VEGF Signaling in Neurological Disorders. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19 (1): 275. DOI: 10.3390/ijms19010275
22. Ren L., Wei C., Li K., Lu Z. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targetting miR-145. *Bio-science reports*. 2019; 39 (3): BSR20180226. DOI: 10.1042/BSR20180226 (Retraction published Biosci Rep. 2020 Jul 31; 40 (7).
23. Egervari K., Potter G., Guzman-Hernandez M.L., Salmon P., Soto-Ribeiro M., Kastberger B., Balla T., Wehrle-Haller B., Kiss J.Z. Astrocytes spatially restrict VEGF signaling by polarized secretion and incorporation of VEGF into the actively assembling extracellular matrix. *Glia*. 2016; 64 (3): 440–456. DOI: 10.1002/glia.22939
24. Matsuo R., Ago T., Kamouchi M., Kuroda J., Kuwashiro T., Hata J., Sugimori H., Fukuda K., Gotoh S., Makihara N., Fukuhara M., Awano H., Isomura T., Suzuki K., Yasaka M., Okada Y., Kiyohara Y., Kitazono T. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke — research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC neurology*. 2013; 13: 32. DOI: 10.1186/1471-2377-13-32
25. Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 — two unequal brothers in mind. *Cell Mol Life Sci.* 2013; 70 (10): 1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3. PMID: PMC3632714
26. Marginean I.C., Stanca D.M., Vacaras V., Soritau O., Margiean M., Muresanu D.F. Plasmatic markers in hemorrhagic stroke. *Journal of medicine and life*. 2011; 4 (2): 148–150.
27. Miao Y., Liao J.K. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke. *Expert review of neurotherapeutics*. 2014; 14 (2): 173–185. DOI: 10.1586/14737175.2014.875471
28. Jickling G.C., Sharp F.R. Biomarker panels in ischemic stroke. *Stroke*. 2015; 46 (3): 915–920. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005604
29. Simpkins A.N., Janowski M., Oz H.S., Roberts J., Bix G., Doré S., Stowe A.M. Biomarker Application for Precision Medicine in Stroke. *Translational stroke research*. 2020; 11 (4): 615–627. DOI: 10.1007/s12975-019-00762-3
10. Kamtchum-Tatuene J., Jickling G.C. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular medicine*. 2019; 21 (4): 344–368. DOI: 10.1007/s12017-019-08530-0
11. Luo W., Liu T., Li S., Wen H., Zhou F., Zafonte R., Luo X., Xu M., Black-Schaffer R., Wood L.J., Wang Y., Wang Q.M. The Serum BDNF Level Offers Minimum Predictive Value for Motor Function Recovery After Stroke. *Translational stroke research*. 2019; 10 (4): 342–351. DOI: 10.1007/s12975-018-0648-5
12. Chaturvedi P., Singh A.K., Tiwari V., Thacker A.K. Brain-derived neurotrophic factor levels in acute stroke and its clinical implications. *Brain circulation*. 2020; 6 (3): 185–190. DOI: 10.4103/bc.b_23_20
13. Koroleva E.S., Tolmachev I.V., Alifirova V.M., Boiko A.S., Levcuk L.A., Loonen A., Ivanova S.A. Serum BDNF's Role as a Biomarker for Motor Training in the Context of AR-Based Rehabilitation after Ischemic Stroke. *Brain sciences*. 2020; 10 (9): 623. DOI: 10.3390/brainsci10090623
14. Lasek-Bal A., Jędrzejowska-Szypulka H., Różyska J., Bal W., Holecki M., Dulawa J., Lewin-Kowalik J. Low Concentration of BDNF in the Acute Phase of Ischemic Stroke as a Factor in Poor Prognosis in Terms of Functional Status of Patients. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 3900–3905. DOI: 10.12659/msm.895358
15. Li K., Jia J., Wang Z., Zhang S. Elevated Serum Levels of NSE and S-100B Correlate with Increased Risk of Acute Cerebral Infarction in Asian Populations. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 1879–1888. DOI: 10.12659/msm.893615
16. Onatsu J., Vanninen R., Jäkälä P., Mustonen P., Pulkki K., Korhonen M., Hedman M., Höglund K., Blennow K., Zetterberg H., Herukka S.K., Taina M., Tau, S100B and NSE as Blood Biomarkers in Acute Cerebrovascular Events. *In vivo (Athens, Greece)*. 2020; 34 (5): 2577–2586. DOI: 10.21873/invivo.12075
17. Haupt W.F., Chopan G., Sobesky J., Liu W.C., Dohmen C. Prognostic value of somatosensory evoked potentials, neuron-specific enolase, and S100 for short-term outcome in ischemic stroke. *Journal of neurophysiology*. 2016; 115 (3): 1273–1278. DOI: 10.1152/jn.01012.2015
18. Mitroshina E.V., Mishchenko T.A., Shirokova O.M., Astrakhanova T.A., Loginova M.M., Epifanova E.A., Babaev A.A., Tarabykin V.S., Vedunova M.V. Intracellular Neuroprotective Mechanisms in Neuron-Glia Networks Mediated by Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019; 2019: 1036907. DOI: 10.1155/2019/1036907
19. Pöyhönen S., Er S., Domanskyi A., Airavaara M. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 486. DOI: 10.3389/fphys.2019.00486
20. Prodjohardjono A., Vidyanti A.N., Susanti N.A., Sudarmanta-Sutarni S., Setyopranoto I. Higher level of acute serum VEGF and larger infarct volume are more frequently associated with post-stroke cognitive impairment. *Plos one*. 2020; 15 (10): e0239370. DOI: 10.1371/journal.pone.0239370
21. Shim J.W., Madsen J.R. VEGF Signaling in Neurological Disorders. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19 (1): 275. DOI: 10.3390/ijms19010275
22. Ren L., Wei C., Li K., Lu Z. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targetting miR-145. *Bio-science reports*. 2019; 39 (3): BSR20180226. DOI: 10.1042/BSR20180226 (Retraction published Biosci Rep. 2020 Jul 31; 40 (7).
23. Egervari K., Potter G., Guzman-Hernandez M.L., Salmon P., Soto-Ribeiro M., Kastberger B., Balla T., Wehrle-Haller B., Kiss J.Z. Astrocytes spatially restrict VEGF signaling by polarized secretion and incorporation of VEGF into the actively assembling extracellular matrix. *Glia*. 2016; 64 (3): 440–456. DOI: 10.1002/glia.22939
24. Matsuo R., Ago T., Kamouchi M., Kuroda J., Kuwashiro T., Hata J., Sugimori H., Fukuda K., Gotoh S., Makihara N., Fukuhara M., Awano H., Isomura T., Suzuki K., Yasaka M., Okada Y., Kiyohara Y., Kitazono T. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke — research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC neurology*. 2013; 13: 32. DOI: 10.1186/1471-2377-13-32
25. Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 — two unequal brothers in mind. *Cell Mol Life Sci.* 2013; 70 (10): 1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3. PMID: PMC3632714
26. Marginean I.C., Stanca D.M., Vacaras V., Soritau O., Margiean M., Muresanu D.F. Plasmatic markers in hemorrhagic stroke. *Journal of medicine and life*. 2011; 4 (2): 148–150.
27. Miao Y., Liao J.K. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke. *Expert review of neurotherapeutics*. 2014; 14 (2): 173–185. DOI: 10.1586/14737175.2014.875471
28. Jickling G.C., Sharp F.R. Biomarker panels in ischemic stroke. *Stroke*. 2015; 46 (3): 915–920. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005604
29. Simpkins A.N., Janowski M., Oz H.S., Roberts J., Bix G., Doré S., Stowe A.M. Biomarker Application for Precision Medicine in Stroke. *Translational stroke research*. 2020; 11 (4): 615–627. DOI: 10.1007/s12975-019-00762-3

Поступила 2021.05.21

Received 2021.05.21