

**Молекулярные маркеры геморрагического инсульта**

А. М. Голубев<sup>1,3</sup>, А. В. Гречко<sup>2</sup>, М. А. Говорухина<sup>1</sup>,  
В. Е. Захарченко<sup>2</sup>, А. Н. Кузовлев<sup>1</sup>, М. В. Петрова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,  
Россия, 141534, Московская область, Солнечногорский район, д. Лыткино, д. 777

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов,  
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

<sup>4</sup> Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,  
Россия, 127994, ГСП-4, г. Москва, Рахмановский пер, д. 3

**Molecular Markers of Hemorrhagic Stroke**

Arkady M. Golubev<sup>1,3</sup>, Andrey V. Grechko<sup>2</sup>, Mariya A. Govorukhina<sup>2</sup>,  
Vladislav E. Zakharchenko<sup>2</sup>, Artem N. Kuzovlev<sup>1</sup>, Marina V. Petrova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,  
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,  
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

<sup>2</sup> Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,  
Russia, 141534, Moscow region, Solnechnogorskiy district, 777, Lytkino village.

<sup>3</sup> Peoples' Friendship University of Russia,  
6 Miklukho-Maclaya Str., 117198 Moscow, Russia,

<sup>4</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia,  
8 Trubetskaya Str., Bldg. 2, 119991 Moscow, Russia

**Для цитирования:** А.М. Голубев, А.В. Гречко, М.А. Говорухина, В.Е. Захарченко, А.Н. Кузовлев, М.В. Петрова. Молекулярные маркеры геморрагического инсульта. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 34–45. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45 [На русск. и англ.]

**For citation:** Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Mariya A. Govorukhina, Vladislav E. Zakharchenko, Artem N. Kuzovlev, Marina V. Petrova. Molecular markers of hemorrhagic stroke. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 34–45. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45 [In Russ. and Engl.]

**Резюме**

Инсульт является второй по частоте причиной смерти в мире после ишемической болезни сердца (ИБС) и третьей по частоте развития инвалидности.

**Цель:** выявление закономерностей содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

**Материал и методы.** Число пациентов с геморрагическим инсультом составило 33, из них мужчин 15, женщин 18. Возраст пациентов — 31–65 лет. Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острейшей стадии через 1–3 часа, 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. Количественную оценку содержания кандидатных молекулярных маркеров повреждения центральной нервной системы (ЦНС) в сыворотке крови у пациентов с геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа в острейшей стадии через 1–3 часа, затем — 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. Определяли нейротрофический фактор головного мозга, нейронспецифическую енолазу, белок S-100 общий, глиальный нейротрофический фактор, васкулоэндотелиальный фактор роста, сиалированный углеводный антиген, супероксиддисмутазу. Молекулярные маркеры ЦНС выявляли с помощью автоматического микропланшетного иммуноферментного анализатора Immupat TM. Контрольную группу составили 20 добровольцев в возрасте 24–58 лет. Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7,0. Использовали параметрические методы статистического анализа, данные представили в виде медианы 25–75 перцентилей (25–75 IQR). Статистически значимым считали различие при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** По сравнению с группой контроля в сыворотках крови пациентов с геморрагическим инсультом отмечали изменение содержания исследуемых кандидатных молекулярных маркеров. В острейшей стадии геморрагического инсульта (1–3 часа от начала заболевания) регистрировали статистически значимое возрастание содержания белка S100, глиального нейротрофического фактора, фактора роста эндотелия сосудов, супероксиддисмутазы, сиалированного углеводного антигена, а сни-

**Адрес для корреспонденции:**

Аркадий Михайлович Голубев  
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

**Correspondence to:**

Arkady M. Golubev  
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

жение содержания мозгового нейротрофического фактора и повышение содержания нейрон-специфической енолазы было статистически недостоверным. В острой стадии геморрагического инсульта (7–14 дней) отмечали статистически значимое снижение содержания мозгового нейротрофического фактора (14 день), повышение содержания фактора роста эндотелия, супероксиддисмутазы, сialiрованного углеводного антигена. В подострой стадии заболевания (30 суток) регистрировали статистически значимое повышение содержания фактора роста эндотелия, супероксиддисмутазы и сialiрованного углеводного антигена.

**Заключение.** Изучили динамику содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, которая, вероятно, отражает процессы альтерации и регенерации, соответствующие стадиям заболевания. Использование данных кандидатных молекулярных биомаркеров, после соответствующей валидации, перспективно в комплексной диагностике, мониторинге лечения и реабилитационных мероприятий у данной категории пациентов.

**Ключевые слова:** геморрагический инсульт, кандидатные молекулярные биомаркеры

## Summary

Stroke is the second most common cause of death after coronary heart disease (CHD) globally and the third most common cause of disability worldwide.

**Aim:** to identify patterns of serum levels of candidate molecular markers in various stages of hemorrhagic stroke.

**Material and methods.** The number of enrolled patients with hemorrhagic stroke was 33, 15 of them were men and 18 women. The age of the patients was 31–65 years. The serum levels of molecular markers of the central nervous system (CNS) were measured in the hyperacute phase of stroke (during 1–3 hours after the onset), and on Days 7, 14 and 30 after the onset of the disease. The serum levels of candidate molecular markers of CNS in patients with hemorrhagic stroke were measured by immunoenzyme analysis during the hyperacute phase (first 1–3 hours), then on Days 7, 14 and 30 after the onset of disease. The levels of neurotrophic brain derived factor, neuron-specific enolase, total S-100 protein, glial cell line-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, sialylated carbohydrate antigen, and superoxide dismutase were determined. The molecular markers of CNS were measured using the Immunomat (TM) automatic microplate immunoenzyme analyzer. The control group included 20 volunteers aged 24–58 years. Statistical analysis of the obtained data was performed using the Statistica 7.0 software. Parametric methods of statistical analysis were used, data were presented as medians and 25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentiles (25–75 IQR). The difference at  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

**Results.** Changes in the serum levels of the studied candidate molecular markers were found in the patients with hemorrhagic stroke compared with the control group. During the hyperacute phase of hemorrhagic stroke (first 1–3 hours), significant increases of S100 protein, glial cell line-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase, sialylated carbohydrate antigen levels, as well as decrease of brain derived neurotrophic factor and increase of neuron-specific enolase levels were revealed. In the acute phase of hemorrhagic stroke (Days 7–14), statistically significant decrease in brain-derived neurotrophic factor level (Day 14) and increase in vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase, sialylated carbohydrate antigen levels were observed. In the subacute phase of disease (Day 30), a statistically significant increases in the vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase and sialylated carbohydrate antigen levels were observed.

**Conclusion.** Serial changes of serum levels of candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke were found, which presumably represent alteration and regeneration corresponding to the disease phases. The use of these candidate molecular biomarkers, after appropriate validation, is a promising tool for comprehensive diagnosis, treatment monitoring and rehabilitation in this category of patients.

**Keywords:** hemorrhagic stroke, candidate molecular biomarkers.

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45

## Введение

Инсульт является второй по частоте причиной смерти в мире после ишемической болезни сердца (ИБС) и третьей по частоте развития инвалидности [1]. Геморрагический инсульт (ГИ) встречается в 5 раз реже ишемического и характеризуется более высокой (до 75%) инвалидизацией [2]. Летальность при геморрагическом инсульте составляет около 60% [3]. В среднем, частота встречаемости инсультов на 1000 человек составляет от 4,2 до 6,5 [4].

## Introduction

Stroke is the second most common cause of death after coronary heart disease (CHD) globally and the third most common cause of disability worldwide [1].

Hemorrhagic stroke is 5 times less common than ischemic and is characterized by higher chance of disability (up to 75%) [2]. Mortality in hemorrhagic stroke can be estimated at about 60% [3]. On average, the incidence of stroke ranges from 4.2 to 6.5 per 1,000 of population [4].

Для диагностики инсульта, помимо клинических и инструментальных, используют лабораторные и биохимические методы исследования [5–7], в т. ч. молекулярные биомаркеры. Исследования по данной проблеме разрозненны, вне поля зрения остается вопрос, касающийся динамики содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов на различных стадиях геморрагического инсульта, что является исключительно важным для оценки общепатологических процессов — альтерации и регенерации — с целью понимания выраженности этих процессов в центральной нервной системе (ЦНС), что определяет эффективность лечения и прогноз заболевания.

Цель — выявление закономерностей содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

### Материал и методы

Количественную оценку содержания кандидатных молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом проводили методом иммуноферментного анализа в первые 3 часа, через 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. 33 пациента (15 мужчин и 18 женщин в возрасте от 31 года до 65 лет) были госпитализированы в отделения реанимации Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии и 3-й городской клинической больницы им. М. П. Кончаловского, г. Москва. Все пациенты имели сопутствующее заболевание в виде гипертонической болезни 3 стадии. 22 пациента получали ИВЛ в острейшем периоде инсульта с последующим успешным отлучением.

Критерии включения: наличие клинических признаков инсульта с подтверждением геморрагического компонента при компьютерной томографии головного мозга; любая локализация геморрагического инсульта; уровень сознания при поступлении, оцененный по шкале комы Глазго, от 4 до 9 баллов; без ограничений по возрасту; без ограничений по коморбидности. Критерии исключения: нестабильная гемодинамика в острейшем периоде инсульта; уровень сознания по шкале комы Глазго ниже 4 баллов; инфекционные осложнения и сепсис; терминальное состояние.

Диагноз геморрагического инсульта выставляли, руководствуясь методическими рекомендациями Минздрава РФ (2020).

Всем пациентам при поступлении в клинику проводили компьютерную томографию. Кровоизлияния по локализации были внутримозговыми и субарахноидальными.

Для исследования содержания кандидатных молекулярных биомаркеров выполняли забор 8 мл венозной крови в стандартные пробирки с этилендиаминтетраацетатом при включении в исследование (в первые 3 часа после госпитализации), через 2, 3 и 4 недели от начала заболевания. Кровь центрифугировали в течение 10 мин. со скоростью 2000 об/мин.

In addition to clinical and instrumental investigations, laboratory and biochemical methods, including molecular marker testing, are used to diagnose stroke [5–7]. Studies on this problem are scarce, and the issue of serial changes in the serum level of candidate molecular markers in various phases of hemorrhagic stroke remains undressed. The issue is extremely important for the evaluation of alteration and regeneration in CNS which is essential for treatment effectiveness and the prognosis of disease.

Aim — to identify the patterns of serum levels of candidate molecular markers in patients with various phases of hemorrhagic stroke.

### Materials and Methods

The measurement of the serum level of CNS candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke was done by immunoenzyme analysis in the first 3 hours, and on Days 7, 14 and 30 after the disease onset. Thirty three patients (15 men and 18 women aged 31 to 65 years) were hospitalized in the intensive care unit of the Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology and the M. P. Konchalovsky 3rd City Clinical Hospital (Moscow). All patients exhibited coexisting 3rd stage hypertension. Twenty two patients underwent lung ventilation in the hyperacute stroke period with successful weaning afterwards.

Inclusion criteria were clinical signs of stroke of any localization with hemorrhagic component confirmed by brain computed tomography, Glasgow coma scale 4–9 on admission. No age or comorbidity restrictions were applied. Exclusion criteria were unstable hemodynamic parameters in the hyperacute period of stroke, Glasgow coma score below 4 points, infectious complications and sepsis, terminal condition.

Hemorrhagic stroke was diagnosed according to the Health ministry of Russian Federation guidelines (2020).

All patients had computed tomography done on admission to the clinic. The localization of hemorrhages was intracerebral or subarachnoid.

Eight ml of venous blood were taken to standard EDTA tubes on study enrolment (during the first 3 hours after hospitalization), 2, 3 and 4 weeks after the disease onset to measure the level of the candidate molecular biomarkers. Blood was centrifuged for 10 min. at a rate of 2000 rpm. Blood plasma (3–4 ml) was separated and frozen in separate tubes without preservatives at 20°C. The level of candidate molecular biomarkers in blood samples was measured by independent laboratory assistants who did not know about the patients included in the study.

The serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neuron-specific enolase (NSE), total protein S-100 ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF), vascular endothelial growth factor (VEGF), sialylated carbohydrate antigen (KL-6), and superoxide dismutase were evaluated. The following reagents were used: CanAg NSE EIA («FUJIREBIO», Sweden); Human Free BDNF Immunoassay (R&D systems, USA); Human GDNF ELISA (ABfrontier, Korea); CanAg S 100 EIA (FUJIREBIO, Sweden); KL-6 KIT (Sekisui

**Характеристика исследуемых групп.****Parameters of the studied groups.**

Parameters	Values in groups		P
	Main, n=33	Control, n=20	
Sex			
male, n (%)	15 (45.5)	8 (40.0)	>0.05
female, n (%)	18 (54.5)	12 (60.0)	>0.05
Age, years (Me, min–max)	42.4 (31–65)	38.5 (24–58)	>0.05

**Примечание.** Parameters — параметры; values in groups — значения в группах; main — основная; control — контрольная; sex, male, female — пол, мужчины, женщины; age, years — возраст, годы.

Плазму крови в количестве 3–4 мл отделяли и замораживали в отдельных пробирках без консерванта при температуре 20°C. Содержание кандидатных молекулярных биомаркеров в образцах крови измеряли независимые лаборанты, не владеющие информацией о больных, включенных в исследование.

Количественно оценивали содержание в сыворотке крови: нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейрон-специфическую енолазу (NSE), белок S-100 общий ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), сиалированный углеводный антиген (KL-6), супероксиддисмутазу. Использовали реактивы следующих фирм: CanAg NSE EIA «FUJIREBIO» (Швеция) нейронспецифическая енолаза; Human Free BDNF Immunoassay «R&D systems» (США) нейротрофический фактор головного мозга (BDNF); Human GDNF ELISA «ABfrontier» (Корея) глиальный нейротрофический фактор (GDNF); CanAg S 100 EIA «FUJIREBIO» (Швеция) белок S-100 общий ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ); KL-6 KIT «Sekisui Medical CO» (Япония) сиалированный углеводный антиген (KL-6); Human VEGF-A Platinum ELISA «eBio-science» (Австрия) васкулоэндотелиальный фактор роста; Superoxide Dismutase Assay Kit «Cayman chemical» (США) супероксиддисмутазы. Для исследований использовали автоматический микропланшетный иммуноферментный анализатор Immunomat™.

Контрольную группу составили 20 добровольцев (24–58 лет), давших согласие на участие в данном исследовании. Исследуемые группы статистически значимо не различались по половому составу и возрасту (таблица).

В контрольной группе выполнили однократный забор 8 мл венозной крови для исследования физиологического уровня кандидатных биомаркеров.

Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7.0. Использовали общепринятые математико-статистические методы расчета основных характеристик выборочных распределений: параметрические методы статистического анализа, данные были представлены в виде медианы 25–75 перцентилей (25–75 IQR). В статистически значимым считали различие при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение****Содержание молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов.**

BDNF В контрольной группе среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга составило 1853,0 (1650,3; 2108,8) пг/мл.

Medical Co, Japan) for sialylated carbohydrate antigen (KL-6) assessment; Human VEGF-A Platinum ELISA (eBioscience, Austria); and Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chemical, USA). The Immunomat™ automatic microplate immunoassay analyzer was used in the study.

The control group included 20 volunteers (24–58 years old) who provided informed consent for study participation. The study groups did not significantly differ by sex and age (table 1).

A single collection of venous blood (8 ml) was performed in the control group to assess the physiological level of candidate biomarkers.

The statistical analysis of the obtained data was carried out using the Statistica 7.0 software. Generally accepted methods were used to evaluate the distribution of variables. The data were presented as medians and 25–75 percentiles (25–75 interquartile ranges, IQR). The differences between groups were considered significant at  $P < 0.05$ .

**Results and Discussion****The serum levels of molecular markers.**

*Brain-derived neurotrophic factor (BDNF).* The median of BDNF was 1853.0 (1650.3; 2108.8) pg/ml in the control group.

Three hours after the onset of hemorrhagic stroke the median of BDNF decreased to 1666.0 (1656.0; 1799.0) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 7 after the stroke development, the median of this parameter remained reduced to 1752.5 (1702; 1801.3) pg/ml. On Day 14 the median of BDNF decreased even more significantly as compared to the control group and was as low as 1498 (1422; 1546) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group, after 3 hours and on Day 7). On Day 30, the median of BDNF was similar to that of the control group and amounted to 1821.0 (1709.3; 1906.0) pg/ml ( $P < 0.05$  vs after 3 hours) (fig., a).

*Neuron-specific enolase (NSE).* The median of NSE was 6.1 (5.8; 6.4)  $\mu\text{g/l}$  In the control group.

Three hours after the onset of the hemorrhagic stroke the average content of NSE tended to increase to 6.3 (5.5; 8.1)  $\mu\text{g/l}$  ( $P > 0.05$ ) vs the control group. After 7 days the value of this parameter remained the same at 6.3 (5.7; 7.1)  $\mu\text{g/l}$ . Fourteen days after the development of hemorrhagic stroke, the serum level of NSE did not change. the control group and was 6.1 (5.8; 7.1)  $\mu\text{g/l}$ . On the Day 30, the level of neuron-specific enolase slightly increased

Через 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга снизилось до 1666,0 (1656,0; 1799,0) пг/мл ( $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля). Через 7 дней после развития инсульта среднее значение данного показателя оставалось сниженным — 1752,5 (1702; 1801,3) пг/мл. На 14-е сутки среднее содержание мозгового нейротрофического фактора снизилось по сравнению с контрольной группой еще более значительно: до 1498 (1422; 1546) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля, 3 часам и 7 суткам). На 30-е сутки среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга приблизилось к показателю группы контроля и составило 1821,0 (1709,3; 1906,0) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к 3 часам) (рис., а).

**Нейрон-специфическая енолаза (NSE).** В контрольной группе среднее содержание нейронспецифической енолазы составило 6,1 (5,8; 6,4) мкг/л.

В первые 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание нейрон-специфической енолазы по сравнению с группой контроля возросло до 6,3 (5,5; 8,1) мкг/л (статистически не значимо). Через 7 дней значение данного показателя оставалось прежним: 6,3 (5,7; 7,1) мкг/л. Через 14 дней после развития геморрагического инсульта содержание в сыворотке крови нейрон-специфической енолазы не менялось по сравнению с контрольной группой и составляло 6,1 (5,8; 7,1) мкг/л. На 30-е сутки содержание нейрон-специфической енолазы возросло до 6,7 (5,1; 7,3) мкг/л по сравнению с группой контроля статистически незначимо (рис., б).

**Белок-S-100.** В контрольной группе среднее содержание белка S-100 составило 41,1 (38,8; 42,9) нг/л.

В первые 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание белка S-100 значимо возрастало до 52,1 (48,7; 60,2) нг/л ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). На 7 сутки этот показатель снизился до 37,6 (35,2; 39,3) нг/л ( $p < 0,05$  по отношению к 1–3 часам). На 7 сутки содержание белка возросло до 44,9 (39,1; 46,4) нг/л ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля и 7-ми суткам) и оставалось на таком же уровне вплоть до 30-х суток после возникновения геморрагического инсульта (рис., в).

**Глиальный нейротрофический фактор (GDNF).** В контрольной группе среднее содержание глиального нейротрофического фактора составило 30,2 (26,7; 52,8) пг/мл.

По сравнению с группой сравнения в первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание глиально-

up to 6.7 (5.1; 7.3)  $\mu\text{g/l}$  vs the control group, but the difference was not significant (fig., b).

**Protein S-100.** The median protein S-100 was 41.1 (38.8; 42.9) ng/l in the control group.

In the first 3 hours after hemorrhagic stroke the median of S-100 increased up to 52.1 (48.7; 60.2) ng/l ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 7, this index decreased to 37.6 (35.2; 39.3) ng/l ( $P < 0.05$  versus 1–3 hours). On Day 7 the protein level increased to 44.9 (39.1; 46.4) ng/l ( $P < 0.05$  vs the control group and Day 7) and remained at the same level till Day 30 after the hemorrhagic stroke (fig., c).

**Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF).** The median of GDNF was 30.2 (26.7; 52.8) pg/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke, the median of GDNF significantly increased to 44.5 (41.2; 49.8) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 7 its median level dropped to 29.5 (28.7; 31.1) pg/ml ( $P < 0.05$  vs 1–3 hours). On the Day 14 the level of glial cell line — derived neurotrophic factor increased to 31.0 (29.9; 35.3) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group) and on Day 30 it decreased to 29.7 (28.9; 36.0) ( $P < 0.05$  vs 1–3 hours) (fig., d).

**The vascular endothelial growth factor (VEGF).** The median level of VEGF-A was 318.0 (133.0; 406.0) pg/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke onset, the median VEGF level dramatically increased to 909.0 (870.0; 1005.0) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 7, this marker increased significantly to 1067.0 (1046.5; 1180.5) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group), and on Day 14 it decreased to 990.0 (876.5; 1460.5) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 30 the median level of VEGF was higher vs the control group and reached 713.0 (696.8; 1075.3) pg/ml ( $P < 0.05$  vs the control group and Day 7), but significantly lower than after 1–3 hours, on Days 7 and 14 after the onset of stroke (fig., e).

**Superoxide dismutase (SOD).** The average content of SOD in plasma was 0.6 (0.56; 0.75) units/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after the hemorrhagic stroke onset the median level of superoxide dismutase increased to 0.86 (0.57; 1.15) units/ml, on Day 7 this value decreased to 0.81 (0.76; 0.96) units/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). On Day 14 it dropped to 0.66 (0.64; 0.73) units/ml ( $P < 0.05$  vs 7 days) and on day 30 it increased to 0.87 (0.81; 0.92) units/ml ( $P < 0.05$  vs Day 14) (fig., f).

**Sialylated carbohydrate antigen (KL-6).** The median level of sialylated carbohydrate antigen was 215.0 (198.0; 298.8) units/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke the level of KL-6 increased to 316.0 (310.0; 337.0) units/ml ( $P < 0.05$  vs the control group). A week later, KL-6 serum concentration decreased vs. the previous value and was 279.5 (250.3; 307.0) units/ml

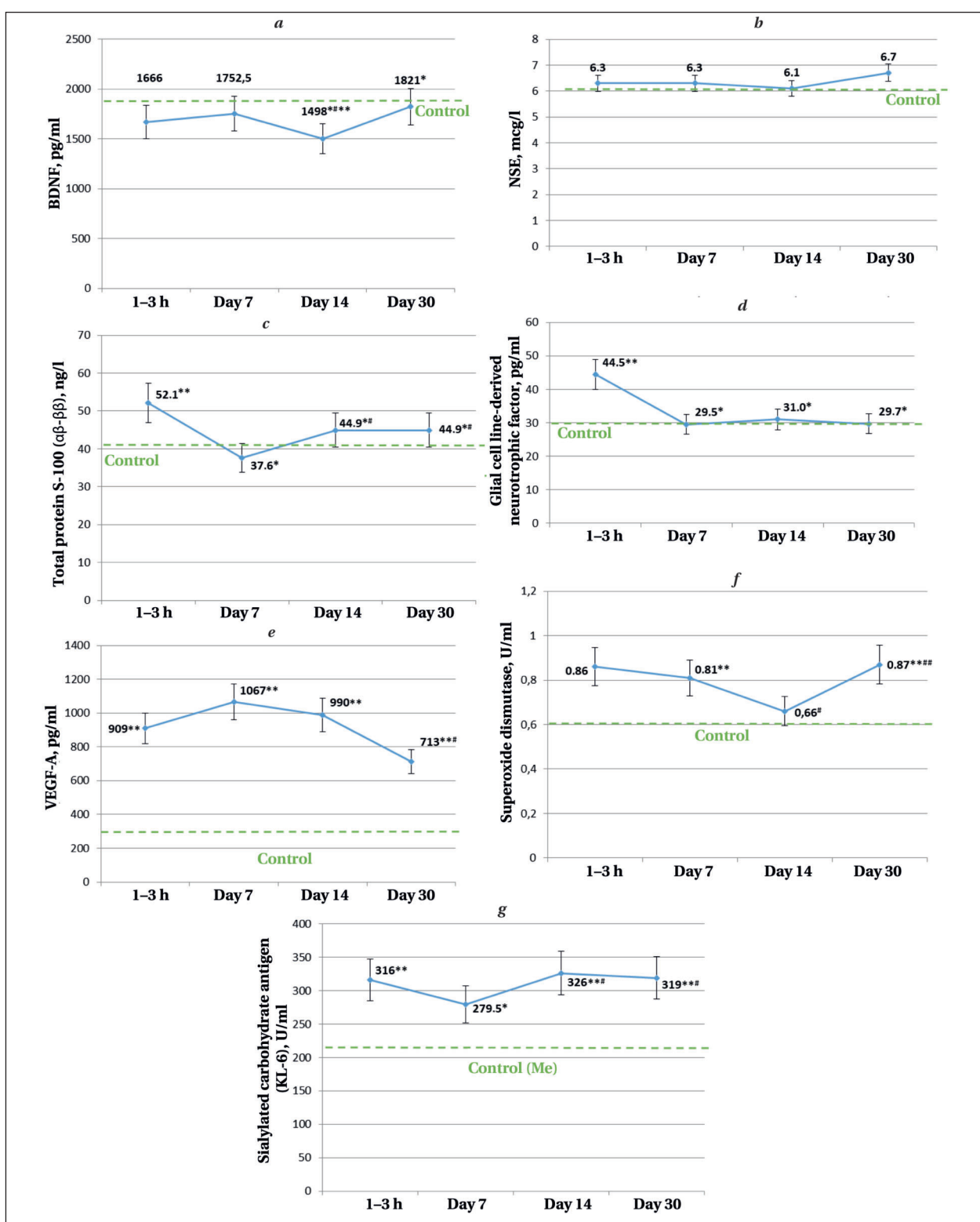


Рис. Динамика изменений содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, Me (LQ; HQ).

Fig. Serial changes of the serum molecular marker levels in patients with hemorrhagic stroke, Me (LQ; HQ).

Note. BDNF — brain-derived neurotrophic factor. The dotted line represents the control group values.  $P < 0.05$ : \*\* — vs the control group; \* — vs after 1-3 hours; # — vs Day 7; ## — vs Day 14.

Примечание. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), pg/ml — нейротрофический фактор головного мозга, пг/мл; neuron-specific enolase (NSE), mcg/l — нейрон-специфическая енолаза (НСЕ), мкг/л; total protein S-100 ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), ng/l — белок S-100 общий ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), нг/л; glial cell line-derived neurotrophic factor, pg/ml — глиальный нейротрофический фактор, пг/мл; vascular endothelial growth factor (VEGF-A), pg/ml — васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF-A), пг/мл; superoxide dismutase, U/ml — супероксиддисмутаза, ЕД/мл; sialylated carbohydrate antigen (KL-6), U/ml — сиалированный углеводный антиген (KL-6), ЕД/мл; day — сутки; hours — часы. Пунктирная линия — контроль.  $p < 0.05$ : \*\* — по отношению к группе контроля; \* — по отношению к 1-3 часам; # — по отношению к 7 суткам; ## — по отношению к 14 суткам.

го нейротрофического фактора существенно возросло до 44,5 (41,2; 49,8) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). На 7 сутки его среднее содержание снизилось до 29,5 (28,7; 31,1) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к 1–3 часам). На 14-е сутки содержание глиального нейротрофического фактора возросло до 31,0 (29,9; 35,3) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля) и на 30-е сутки — снизилось до 29,7 (28,9; 36,0) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к 1–3 часа) (рис., *d*).

*Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF).* В контрольной группе среднее содержание васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A) составило 318,0 (133,0; 406,0) пг/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание васкулоэндотелиального фактора резко возросло до 909,0 (870,0; 1005,0) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). На 7-е сутки значение показателя значимо возросло до 1067,0 (1046,5; 1180,5) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля), а на 14-е сутки — снизилось до 990,0 (876,5; 1460,5) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). На 30-е сутки среднее содержание васкулоэндотелиального фактора было выше по сравнению с группой контроля — 713,0 (696,8; 1075,3) пг/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля и 7 суткам), но значительно ниже, чем через 1–3 часа, 7 и 14 суток от начала развития инсульта (рис., *e*).

*Супероксиддисмутаза.* В контрольной группе среднее содержание супероксиддисмутазы составило 0,6 (0,56; 0,75) ЕД/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание супероксиддисмутазы возросло до 0,86 (0,57; 1,15) ЕД/мл, на 7 сутки значение этого показателя снизилось до 0,81 (0,76; 0,96) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). На 14-е сутки — снизилось до 0,66 (0,64; 0,73) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к 7-ми суткам) и на 30-е сутки — возросло до 0,87 (0,81; 0,92) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля и 14 суткам) (рис., *f*).

*Сиалированный углеводный антиген (KL-6).* В контрольной группе среднее содержание сиалированного углеводного антигена составило 215,0 (198,0; 298,8) ЕД/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта содержание сиалированного углеводного антигена возросло до 316,0 (310,0; 337,0) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля). Через неделю его содержание в сыворотке крови уменьшилось по сравнению с предыдущим показателем и составляло 279,5 (250,3; 307,0) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к 1–3 часам), а на 14-е сутки — снова повысилось до 326,0 ЕД/мл (317,5; 386,5) ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля и 7-ми суткам). На 30-е сутки содержание сиалирован-

( $P < 0,05$  vs 1–3 hours), while on Day 14 it increased again to 326.0 units/ml (317.5; 386.5) ( $P < 0,05$  vs Day 7). On Day 30, the level of KL-6 was 319.0 (307.8; 375.5) units/ml ( $P < 0,05$  vs the control group and Day 7) (fig., *g*).

The obtained results confirm changes in the serum level of the studied candidate molecular markers in patients in various phases of hemorrhagic stroke.

A decrease of BDNF serum level was registered in patients in hyperacute phase of hemorrhagic stroke 1–3 hours after the onset of the disease, with this reduction being maximal by Day 14. After Day 30 the serum level of BDNF approached the control values.

NSE level was slightly increased in both acute and subacute periods of the disease.

The level of protein S-100 in serum significantly increased in the hyperacute period of hemorrhagic stroke 3 hours after the onset of the disease and fell below the control values in the acute period after 7 days. Between Days 14–30 (subacute period) the S-100 protein level increased again, exceeding the control level.

The serum level of GDNF increased significantly in the hyperacute period of hemorrhagic stroke (3 hours after the onset of cerebral hemorrhage). Between Days 7–30 (acute and subacute periods) the GDNF content was close to the control values.

There was also a significant increase of VEGF level during hyperacute, acute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

The level of SOD increased significantly after 3 hours and on Day 7 in the hyperacute and acute periods of the disease. On Day 14 this marker's level decreased, and then increased again after 30 days from the onset of the disease in the subacute period of hemorrhagic stroke.

The level of KL-6 increased significantly (vs the control group) in the hyperacute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

The implications of changes in the serum level of the studied molecular biomarkers reflecting alteration and regeneration in the CNS in hemorrhagic stroke are related to their important role in the functioning of neurons, glial cells and endothelium. In particular, BDNF is a neurotrophic protein which stimulates growth and reparation in neurons, increases their synaptic plasticity and resistance to damaging factors [12–14]. Stress, trauma, hypoglycemia, brain ischemia affect BDNF expression [15]. Some mechanisms of synaptic plasticity have been detected. Thus, BDNF of microglia stimulates phosphorylation of neuronal kinase B receptor associated with tropomyosin, which is a key mediator of synaptic plasticity (Miao H. et al, 2018) [16]. Inhibition mechanisms of spatial learning and memory capacity in rats with brain haemorrhage may be associated with reduced brain expression of BDNF [17]. This was confirmed by

ного углеводного антигена составило 319,0 (307,8; 375,5) ЕД/мл ( $p < 0,05$  по отношению к группе контроля и 7 суткам) (рис., г).

Полученные результаты свидетельствуют об изменениях содержания исследуемых кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

В острой стадии геморрагического инсульта регистрировали снижение содержания мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом через 1–3 часа от начала заболевания, которое достигло минимума к 14 суткам. Через 30 суток содержание мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови приблизилось к контрольным значениям.

Нейрон-специфическая енолаза характеризовалась незначимым повышением ее содержания как в остром, так и подостром периоде заболевания.

Содержание белка S-100 в сыворотке крови статистически значимо возросло в острейшем периоде геморрагического инсульта через 3 часа от начала заболевания и снизилось ниже контрольных значений в остром периоде через 7 суток. В интервале 14–30 суток (подострый период) содержание белка S-100 вновь возросло, превышая контрольный уровень.

Глиальный нейротрофический фактор характеризовался статистически значимым возрастанием его содержания в сыворотке крови в острейшем периоде геморрагического инсульта (через 3 часа после развития внутримозгового кровоизлияния). В интервале 7–30 суток (острый и подострый периоды заболевания) содержание глиального нейротрофического фактора приближалось к контрольным значениям.

Отметили также существенное и статистически значимое возрастание содержания фактора роста эндотелия сосудов в острейшем, остром и подостром периодах геморрагического инсульта.

Содержание супероксиддисмутазы статистически значимо возросло через 3 часа и 7 суток в острейшем и остром периоде начала заболевания. На 14-е сутки значение этого показателя снизилось, а затем вновь возросло через 30 суток от начала заболевания в подостром периоде геморрагического инсульта.

Содержание сиалированного углеводного антигена (KL-6) статистически значимо возросло (по сравнению с контрольной группой) в острейшем и подостром периодах геморрагического инсульта.

Последствия изменения содержания исследуемых молекулярных биомаркеров в сыворотке крови, отражающих процессы альте-

perimental studies showing that BDNF secreted by transplanted stem cells is one of the paracrine factors that play a major role in reducing severe brain damage caused by brain haemorrhage in newborn rats [18].

NSE is one of the structural variants of the enolase enzyme. NSE is present in all cells of a living organism and takes part in glycolysis. The enzyme is present in red blood cells, neuroendocrine cells as well as in neuronal cytoplasm and is one of the markers of brain damage and prognosis in stroke. Assessment of NSE in acute period of ischemic stroke is useful for monitoring the blood-brain barrier and predicting the transformation into hemorrhagic stroke [19]. The increase in the level of this enzyme is associated with irreversible neuronal damage resulting from abnormal metabolism and structural changes in cells [20]. Although the neuron-specific enolase does not help differentiate between ischemic and hemorrhagic strokes, it can be used to assess the degree of brain damage both in the first hours after the disease onset and later [21].

The S100 protein, a low-molecular calcium-binding protein, is mainly produced by glial cells (astrocytes) as well as by Schwann cells. The protein was given its name because of its ability to dissolve in 100% ammonium sulfate solution (pH 7.2). The protein S-100 has been studied in patients with various brain injuries, including trauma, stroke and subarachnoid hemorrhage [22]. The blood level of protein S100 has been shown to rise during the acute phase of stroke [23]. Proven correlations of S100B level in biological fluids in different CNS diseases allow using it as a marker of cognitive impairment as well as for monitoring the effectiveness of therapy [24]. The S100B concentration in blood is significantly higher in patients with intracranial hemorrhage or brain injury than in healthy subjects and in patients with hemorrhagic stroke. Therefore, this marker may be used to diagnose brain injury [25, 26].

GDNF is a protein, which is produced by astrocytes and is mainly present in them. GDNF participates in neurogenesis being a necessary factor for maintaining viability and functioning of neurons, stimulates axon growth, controls synapses formation, has a neuroprotective function by stimulating the expression of neuronal regeneration genes and blocking apoptosis by triggering cellular signal pathways that affect gene expression [27–29].

VEGF is a signal protein produced by cells to stimulate angiogenesis [30, 31]. VEGF increases vascular permeability, antithrombotic and anti-inflammatory properties of the endothelium, reduces the risk of endothelial alteration caused by damaging factors, has a neurotrophic and neuroprotective effect on CNS neurons and glial cells [32]. The vascular endothelial growth factor molecules bind to receptors on the surface of cells with tyrosinase activity, which are activated by transphosphorylation.



рации и регенерации в ЦНС при геморрагическом инсульте, связаны с их важной ролью в функционировании нейронов, клеток глии и эндотелия. В частности, BDNF — белок-нейротрофин, который стимулирует рост и репаративные процессы в нейронах, повышает их синаптическую пластичность, устойчивость к повреждающим факторам [12–14]. Стресс, травма, гипогликемия, ишемия мозга влияют на экспрессию BDNF [15]. Обнаружены некоторые механизмы синаптической пластичности. Так, BDNF микроглии стимулирует фосфорилирование нейронального киназного рецептора B, связанного с тропомиозином, являющегося ключевым медиатором синаптической пластичности (Miao H. et al 2018) [16]. Механизмы ингибирования пространственного обучения и способность к памяти у крыс при кровоизлиянии в мозг могут быть связаны со снижением мозговой экспрессии BDNF [17]. Это подтверждается экспериментальными исследованиями, свидетельствующими о том, что BDNF, секретируемый трансплантированными стволовыми клетками, является одним из паракринных факторов, играющим основную роль в ослаблении тяжелых повреждений головного мозга, вызванных кровоизлиянием в мозг у новорожденных крыс [18].

Нейронспецифическая енолаза (NSE) является одной из структурных разновидностей фермента енолазы. NSE присутствует во всех клетках живого организма и принимает участие в процессах гликолиза. Данный фермент находится в эритроцитах, нейроэндокринных клетках, а также в цитоплазме нейронов и является одним из маркеров повреждения головного мозга, а также одним из прогностически важных маркеров инсульта. Анализ NSE во время острого периода ишемического инсульта полезен для мониторинга состояния гематоэнцефалического барьера, а также прогнозирования его трансформации в геморрагический инсульт [19]. Повышение содержания данного фермента связывают с необратимыми повреждениями нейронов в результате нарушений метаболизма и структурных изменений клеток [20]. Показано, что нейрон-специфическая енолаза не позволяет дифференцировать ишемический и геморрагический инсульты, но важна для определения степени повреждения мозга как в первые часы, так и в динамике заболевания [21].

Белок S100 — низкомолекулярный кальций-связывающий белок в основном продуцируется клетками глии (астроцитами), а так же шванновскими клетками. Название белка обусловлено его способностью растворяться в 100% растворе сульфата аммония (pH 7,2). Белок S-100 исследован у пациентов с различными повреждениями мозга, включая травмы,

In hypoxia, the hypoxia-induced factor causes release of VEGF proteins which bind to VEGF receptors on the endothelial surface and activate tyrosine kinase by triggering angiogenesis. Serum content of VEGF in hemorrhagic stroke patients increases and correlates with neurological deficit signs [33].

SOD belongs to the group of antioxidant enzymes and is one of the main systems of local free radical removal which is activated in acute and chronic CNS diseases [34, 35]. Its exogenous supply can serve as an effective prevention and treatment of some neurological diseases [36]. In an experimental model of hemorrhagic stroke, a flavonoid isoliquiritigen activated the antioxidant system (particularly, the superoxide dismutase) mediated by Nrf2, reduced neurological deficit, brain oedema, minimized neuronal and blood-brain barrier damage [37]. The main role in antioxidant protection is played by manganese dependent superoxide dismutase localised in mitochondria, where the main production of superoxide occurs [38].

KL-6 is part of the glycans that form the surface layer of cells called «glycocalyx». Glycocalyx is composed of sialylated proteoglycans. Its damage is seen in atherosclerosis, stroke, hypertension, trauma, ischemic and reperfusion injury, exposure to free radicals or endotoxins, and hyperglycemia. This leads to increased vascular permeability and worsens metabolic disorders [39, 40]. Damage to endothelial glycocalyx affects the permeability of blood vessels, their tone, coagulation, etc. Increased glycocalyx degradation products in blood might serve as a useful diagnostic and prognostic test in critical illness [41].

Mechanisms leading to changes in concentrations of serum molecular biomarkers in hemorrhagic stroke patients remain poorly studied. Recently, microRNAs, which represent a flexible network of gene expression regulators, have been recognized to play an important role in these processes. Particular attention is paid to several clusters of micro-RNA involved in neuroprotection (miR-124, miR-181, miR-21, miR-29, miR-210 and let7). Micro-RNA is considered a promising target for future stroke therapy [42].

The in vivo administration of miR-130a inhibitor or Micro-RNA simulator (miR-367, miR-223) improved neurological outcomes in an animal model of intracerebral hemorrhage [43]. In addition, the study showed that the plasma levels of circulating miR-181b, miR-223, miR-155 and miR-145 may serve as a potential non-invasive tool for the detection of hemorrhagic stroke [44].

## Conclusion

Changes in serum levels of candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke presumably reflect alteration and regeneration corre-

инсульт и субарахноидальное кровоизлияние [22]. Содержание белка S100 повышено в крови во время острой фазы инсульта [23]. Доказанные корреляции уровня S100B в биологических жидкостях при различных заболеваниях ЦНС позволяют использовать его как маркер когнитивных нарушений, а также для мониторинга эффективности проводимой терапии [24]. Содержание S100 в крови значительно выше у пациентов с внутримозговым кровоизлиянием, черепно-мозговой травмой, чем у здоровых людей и у пациентов с геморрагическим инсультом. В связи с этим, данный показатель может быть использован для диагностики черепно-мозговой травмы [25, 26].

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF) — белок, который содержится преимущественно в астроцитах и является продуктом синтеза данных клеток. GDNF принимает участие в процессах нейрогенеза, является необходимым фактором для поддержания жизнеспособности и функционирования нейронов, стимулирует рост аксонов, контролирует образование синапсов, выполняет нейропротекторную функцию, стимулируя экспрессию генов нейрональной регенерации и блокируя апоптоз путем запуска сигнальных каскадов в клетке, влияющих на экспрессию генов [27–29].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) — сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования ангиогенеза [30, 31]. VEGF повышает проницаемость сосудов, увеличивает антитромботические и противовоспалительные свойства эндотелия, снижает риск его альтерации при воздействии повреждающих факторов, оказывает нейротрофическое и нейропротективное воздействие на нейроны и клетки глии ЦНС [32]. Белки фактора роста эндотелия сосудов связываются с рецепторами на поверхности клеток, обладающих тирозиназной активностью, которые активируются в результате трансфосфорилирования. При гипоксии под влиянием фактора, индуцируемого гипоксией, высвобождаются белки VEGF, которые связываются с VEGF-рецепторами на поверхности эндотелия, активируют тирозинкиназу, запуская ангиогенез. Содержание VEGF в сыворотке крови у пациентов с геморрагическим инсультом возрастает и коррелирует с показателями неврологического дефицита [33].

Супероксиддисмутаза (SOD) относится к группе антиоксидантных ферментов и является одной из основных систем удаления свободных радикалов в месте их образования и активируется при острых и хронических заболеваниях ЦНС [34, 35]. Его экзогенное поступление может служить эффективным методом профилактики и лечения ряда неврологических заболеваний [36]. В экспериментальной модели гемор-

рагического инсульта флавоноид изоликуритин активировал антиоксидантную систему (в частности, супероксиддисмутаза), опосредованную Nrf2, уменьшал неврологический дефицит, отек мозга, минимизировал повреждения нейронов и гематоэнцефалического барьера [37]. Основную роль в антиоксидантной защите играет марганец-зависимая супероксиддисмутаза в связи с ее локализацией в митохондриях, где осуществляется основная продукция супероксида [38].

Сиалированный углеводный антиген (KL-6) входит в состав гликанов, образующих поверхностный слой клеток, получивший название «гликокаликс». В состав гликокаликса входят сиалированные протеоглики. При атеросклерозе, инсульте, гипертонической болезни, травме, ишемических и реперфузионных повреждениях, влиянии свободных радикалов, эндотоксина, гипергликемии отмечается повреждение гликокаликса. Это приводит к повышению проницаемости сосудов и усугубляет нарушение метаболизма [39, 40]. Повреждение гликокаликса эндотелия влияет на проницаемость сосудов, их тонус, коагуляцию и др. Повышение содержания в крови продуктов распада гликокаликса может быть полезным диагностическим и прогностическим тестом при критических состояниях [41].

Механизмы, ведущие к изменениям содержания молекулярных биомаркеров в сыворотке крови при геморрагическом инсульте, остаются недостаточно изученными. В последнее время считают, что важная роль в этих процессах принадлежит микро-РНК, которые представляют собой гибкую сеть регуляторов экспрессии генов. Особое внимание уделяется нескольким кластерам микро-РНК, участвующим в нейропротекции (miR-124, miR-181, miR-21, miR-29, miR-210 и let7). Микро-РНК рассматривается как многообещающая мишень будущей терапии инсульта [42].

Введение *in vivo* ингибитора miR-130a или имитатора Микро-РНК (miR-367, miR-223) на модели внутримозгового кровоизлияния на животных улучшало неврологические исходы [43]. Кроме этого, результаты исследования показали, что измерение содержания циркулирующих miR-181b, miR-223, miR-155 и miR-145 в образцах плазмы может служить потенциальным неинвазивным инструментом для обнаружения геморрагического инсульта [44].

## Заключение

Динамика содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, вероятно, отражает процессы альтерации и регенерации, соответствующие стадиям заболевания. Использо-

зование данных кандидатных молекулярных биомаркеров, после соответствующей валидации, перспективно при комплексной диагностике, мониторинге лечения и реабилитационных мероприятий у данной категории пациентов.

## Литература

1. Feigin V.L., Norrving B., Mensah G.A. Global Burden of Stroke. *Circulation Research*, 2017; 120 (3): 439–448. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
2. Liu C.H., Lin J.R., Liou C.W., Lee J.D., Peng T.I., Lee M., Lee T.H. Causes of Death in Different Subtypes of Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Angiology*. 2018. 69 (7): 582–590. DOI: 10.1177/0003319717738687
3. Мачинский П. А., Плотникова Н. А., Ульянкин В. Е., Кемайкин С. П., Рыбаков А. Г. Сравнительная характеристика показателей смертности и летальности от ишемического и геморрагического инсультов в России. *Медицинские науки. Патологическая анатомия*. 2019; 3 (51): 101–116. УДК 616-005. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
4. Мустафин М.С., Новикова Л.Б., Аюпьян А.П., Шакиров Р.Р. Нейрохирургические аспекты геморрагического инсульта. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2018; 12 (1): 19–23. DOI: 10.25692/ACEN.2018.1.3
5. Yabluchanskiy A.N. Leukocytes as markers of hemorrhagic stroke inflammatory nature. *Вестник Харьковского медицинского университета им. Каразина*. 2012; 23 (998): 10–22 УДК 616.831
6. Samavarchi Tehrani S., Khatami S.H., Saadat P., Sarfi M., Ahmadi Ahangar A., Daroie R., Firouzjahi A., Maniati M. Association of serum magnesium levels with risk factors, severity and prognosis in ischemic and hemorrhagic stroke patients. *Caspian J Intern Med*. 2020; 11 (1): 83–91. DOI: 10.22088/cjim.11.1.83.
7. Картавых И.А., Соколов А.В., Гребенникова И.В., Тумановский Ю.М. Патфизиологическая, клиническая и лабораторная характеристика геморрагических и ишемических инсультов: ретроспективный анализ. *Международный студенческий научный вестник*. 2018; 4–4: 607–610. УДК: 616.831-005.1-07-0922
8. Нетесова Е.С., Нетесов Е.В. Нейрональные биомаркеры у пациентов с острой симптоматикой инсульта. *Медицинские науки (14.01.00 Клиническая медицина)*, 2016; 2: 4. УДК 616.831-005.1
9. Zheng L., Xiong Y., Liu J., Yang X., Wang L., Zhang S., Liu M., Wang D. MMP-9-Related microRNAs as Prognostic Markers for Hemorrhagic Transformation in Cardioembolic Stroke Patients. *Frontiers in Neurology*. 2019; 10: 945. DOI: 10.3389/fneur.2019.0094
10. Mingyi Chen, Xin Lin, David Nam, Lucy Ogbu-Nwobodo. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in sickle cell disease vasculopathy. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2016; 60 44–48. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.005
11. Sporek M., Dumnicka P., Gala-Bładziniska A. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at the early stage of acute pancreatitis. *Folia Medica Cracoviensia*. 2016; 5: 16; ISSN 0015-5616 PMID: 28013317
12. Аляутдин Р.Н., Романов Б.К., Лепехин В.К., Халин И.В., Бунятян Н.Д., Меркулов В.А., Миронов А.Н. Рекомбинантный нейротрофический фактор головного мозга: панacea для мозга? *Биопрепараты* 2014; 2: 22–30. УДК 615.21+615.033
13. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Голубев А.М., Голубева Н.В. Роль мозгового нейротрофического фактора BDNF и его рецептора TrkB в устойчивости нейронов гиппокампа к ишемии-реперфузии (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2018. 14 (6): 41–50. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50.
14. Cohen Cory, S., Kidane, A.H., Shirkey, N.J., and Marshak, S. (2010) Brain derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Developmental Neurobiology*, 2010; 70, 271–288. DOI: 10.1002/dneu.20774.
15. Попова Н.К., Ильчибаева Т.В., Науменко В.С. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотоническая система мозга. *Биохимия*, 2017; 3: 449–459 УДК: 577.25
16. Parkhurst C.N., Yang G., Ninan L., Savas J. N., Yates J.R., La faille J.J., Hempstead B. L., Littman D.R., Gan W.B. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell*. 2013. 155 (7): 1596–1609. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.030.
17. Guo Y.C., Song X.K., Xu Y.F., Ma J.B., Zhang J.J., Han P.J. The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematomal tissue in rats with intracerebral hemorrhage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017; 21 (15): 3452–3458. DOI: 10.26355/eur-rev\_202003\_20551
18. Ahn S.Y, Chang Y.S., Sung D.K., Sung S.I., Ahn J.Y., Park W.S. Pivotal Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Secreted by Mesenchymal Stem Cells in Severe Intraventricular Hemorrhage in Newborn Rats. *Cell Transplantation*. 2017; 26 (1): 145–156. DOI: 10.3727/096368916X692861.
19. Kim B.J., Kim Y.J., Ahn S.H., Kim N.Y., Kang D.W., Kim J.S., Kwon S.U. The second elevation of neuron-specific enolase peak after ischemic stroke is associated with hemorrhagic transformation. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2014; 23 (9): 2437–2443. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.05.020.
20. Жукова И.А., Алифирова В.М., Жукова Н.Г. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенератив-

## References

1. Feigin V.L., Norrving B., Mensah G.A. Global Burden of Stroke. *Circulation Research*. 2017; 120 (3): 439–448. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
2. Liu C.H., Lin J.R., Liou C.W., Lee J.D., Peng T.I., Lee M., Lee T.H. Causes of Death in Different Subtypes of Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Angiology*. 2018. 69 (7): 582–590. DOI: 10.1177/0003319717738687
3. Machinskij P. A., Plotnikova N. A., Ulyankin V. E., Kemajkin S. P., Rybakov A. G. Comparative characteristics of mortality and mortality from ischemic and hemorrhagic strokes in Russia. *Meditsinskie nauki. Patologicheskaya anatomiya*. 2019; 3 (51): 101–116 [In Russ.]. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
4. Mustafin M.S., Novikova L.B., Akopyan A.P., Shakirov R.R. Neurosurgical aspects of hemorrhagic stroke. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy neurologii*. 2018; 12 (1): 19–23 [In Russ.]. DOI: 10.25692/ACEN.2018.1.3
5. Yabluchanskiy A.N. Leukocytes as markers of hemorrhagic stroke inflammatory nature. *Vestnik Harkovskogo meditsinskogo universiteta im. Karazina*. 2012; 23 (998): 10–22 УДК 616.831 [In Russ., In Ukr.]
6. Samavarchi Tehrani S., Khatami S.H., Saadat P., Sarfi M., Ahmadi Ahangar A., Daroie R., Firouzjahi A., Maniati M. Association of serum magnesium levels with risk factors, severity and prognosis in ischemic and hemorrhagic stroke patients. *Caspian J Intern Med*. 2020; 11 (1): 83–91. DOI: 10.22088/cjim.11.1.83.
7. Kartavyh I.A., Sokolov A.V., Grebennikova I.V., Tumanovskiy Yu.M. Pathophysiological, clinical and laboratory characteristics of hemorrhagic and ischemic strokes: a retrospective analysis. *Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik*. 2018; 4–4: 607–610 [In Russ.]. УДК: 616.831-005.1-07-0922
8. Netesova E.S., Netesov E.V. Neuronal biomarkers in patients with acute stroke symptoms. *Meditsinskie nauki (15.01.00 Klinicheskaya meditsina)*, 2016; 2: 4 [In Russ.]. УДК 616.831-005.1
9. Zheng L., Xiong Y., Liu J., Yang X., Wang L., Zhang S., Liu M., Wang D. MMP-9-Related microRNAs as Prognostic Markers for Hemorrhagic Transformation in Cardioembolic Stroke Patients. *Frontiers in Neurology*. 2019; 10: 945. DOI: 10.3389/fneur.2019.0094
10. Mingyi Chen, Xin Lin, David Nam, Lucy Ogbu-Nwobodo. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in sickle cell disease vasculopathy. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2016; 60 44–48. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.005
11. Sporek M., Dumnicka P., Gala-Bładziniska A. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at the early stage of acute pancreatitis. *Folia Medica Cracoviensia*. 2016; 5: 16; ISSN 0015-5616 PMID: 28013317
12. Alyautdin R.N., Romanov B.K., Lepahin V.K., Halin I.V., Bunyatyan N.D., Merkulov V.A., Mironov A.N. Recombinant neurotrophic factor of the brain: a panacea for the brain? *Biopreparaty*. 2014; 2: 22–30 [In Russ.]. УДК 615.21+615.033
13. Ostrava I.V., Avrushchenko M.S., Golubev A.M., Golubeva N.V. The Contribution of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and its TrkB Receptor to Hippocampal Neuron Resistance to Ischemia-Repfusion (Experimental Study). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2018; 14 (6): 41–50. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50.
14. Cohen Cory, S., Kidane, A.H., Shirkey, N.J., and Marshak, S. (2010) Brain derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Developmental Neurobiology*, 2010; 70, 271–288. DOI: 10.1002/dneu.20774.
15. Popova N.K., Ilchibaeva T.V., Naumenko V.S. Neurotrophic factors (BDNF, GDNF) and the serotonergic system of the brain. *Biokhimiya*. 2017; 3: 449–459 [In Russ.] УДК: 577.25
16. Parkhurst C.N., Yang G., Ninan L., Savas J. N., Yates J.R., La faille J.J., Hempstead B. L., Littman D.R., Gan W.B. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell*. 2013. 155 (7): 1596–1609. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.030.
17. Guo Y.C., Song X.K., Xu Y.F., Ma J.B., Zhang J.J., Han P.J. The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematomal tissue in rats with intracerebral hemorrhage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017; 21 (15): 3452–3458. DOI: 10.26355/eur-rev\_202003\_20551
18. Ahn S.Y, Chang Y.S., Sung D.K., Sung S.I., Ahn J.Y., Park W.S. Pivotal Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Secreted by Mesenchymal Stem Cells in Severe Intraventricular Hemorrhage in Newborn Rats. *Cell Transplantation*. 2017; 26 (1): 145–156. DOI: 10.3727/096368916X692861.
19. Kim B.J., Kim Y.J., Ahn S.H., Kim N.Y., Kang D.W., Kim J.S., Kwon S.U. The second elevation of neuron-specific enolase peak after ischemic stroke is associated with hemorrhagic transformation. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2014; 23 (9): 2437–2443. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.05.020.
20. Zhukova I.A., Alifirova V.M., Zhukova N.G. Neuron-specific enolase as a non-specific marker of a neurodegenerative process. *Byulleten*

- ного процесса. *Бюллетень сибирской медицины*, 2011; 2: 15–21. УДК 616.8: 612.818.91: 577.151/.152
21. *Топузова М.П., Алексеева Т.М., Панина Е.Б., Вавилова Т.В., Ковзев П.Д., Портник О.А., Скоромец А.А.* Возможность использования нейрон-специфической енолазы в качестве биомаркера в остром периоде инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им С. С. Корсакова*. 2019; 119 (8. Вып. 2): 53–62. DOI: 10.17116/jnevro201911908253.
  22. *Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi M.A., Serrano A., Marchese E., Corvino V, Geloso M.C.* The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *The Journal of Neurochemistry* 2019; 148 (2): 168–187. DOI: 10.1111/jnc.14574.
  23. *He Y, Cai Z., Chen Y.* Role of S-100 $\beta$  in stroke. *International Journal of neuroscience* 2018; 128 (12): 1180–1187. DOI: 10.1080/00207454.2018.1481065.
  24. *Нечунаева Е.В., Шумахер Г.И., Воробьева Е.Н. и др.* Иммунобиохимические показатели в ранней диагностике хронической ишемии головного мозга. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011; 2: 142–146. УДК 616.831-005.4-002.2-072: 612.015/.017
  25. *Аудын I., Алгын А., Поураз М.К., Юмрутас О.* Diagnostic value of serum glial fibrillary acidic protein and S100B serum levels in emergency medicine patients with traumatic versus nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Nigerian journal of clinical practice*, 2018; 21 (12): 1645–1650. DOI: 10.4103/njcp.njcp\_431\_17.
  26. *Zhou S., Bao J., Wang Y., Pan S.* S100 $\beta$  as a diomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Journal of Neurology Research* 2016; 38 (4): 327–332. DOI: 10.1080/01616412.2016.1152675.
  27. *Шушкина Т.В., Ведунова М.В. Мищенко Т. А.* Роль глияльного нейротрофического фактора в функционировании нервной системы (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2015; 4 211–220. DOI: 10.17691/stm2015.7.4.27 УДК 612.81: 616.8-002-056.7
  28. *Куркина А.С., Григорьева В.Н.* Роль глияльного нейротрофического фактора в норме и при патологии нервной системы (обзор); *Медицина и фармакология: электронный научный журнал*; 2016; 10 (32): 4–10. URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3749>
  29. *Ibáñez C.F., Andressoo J.O.* Biology of GDNF and its receptors — Relevance for disorders of the central nervous system. *Neurobiology of Disease*, 2017; 97 (Pt B): 80–89. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.01.021.
  30. *Belgore F.M., Blann A.D., Li-Saw-Hee F.L.* Plasma level of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Amer. J. Cardiology*, 2001; 87: 805–807.
  31. *Leung D.W.* Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989; 246 (4935): 1306–1309. DOI: 10.1126/science.2479986
  32. *Theis V., Theiss C.* VEGF — A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein and Peptide Science* 2018; 19 (6): 589–597. DOI: 10.2174/1389203719666180104113937.
  33. *Yang G., Shao G.F.* Elevated serum IL-11, TNF $\alpha$ , and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Journal of the Neurological Sciences*, 2016; 37 (8): 1253–1259. DOI: 10.1007/s10072-016-2576-z.
  34. *Spranger M., Krepien S.* Superoxide Dismutase Activity in Serum of Patients With Acute Cerebral Ischemic Stroke; 1997; 28: 2425–2428. DOI: 10.1161/01.STR.28.12.2425
  35. *Пушкина Т.А., Токаев Э.С., Попова Т.С., Бородин Е.Н.* Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы (обзор литературы). *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2016; (4): 42–47.
  36. *Davis S.M., Pennypacker K.R.* Targeting antioxidant enzyme expression as atherapeutic strategy for ischemic stroke. *Neurochemistry international*. 2017; 107: 23–32. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.12.007
  37. *Zeng J., Chen Y., Ding R., Feng L. Fu Z., Yang S., Deng X., Xie Z., Zheng S.* Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- $\kappa$ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *Journal of Neuroinflammation* 2017; 14 (1): 119. DOI: 10.1186/s12974-017-0895-5.
  38. *Bresciani G., da Cruz I.B., González-Gallego J.* Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in clinical chemistry*, 2015; 68: 87–130. DOI: 10.1016/bs.acc.2014.11.001.
  39. *Tarbell J.M., Cancel L.M.* The glycocalyx and its significance in human medicine. *Journal of Internal Medicine*. 2016; 280 (1): 97–113. DOI: 10.1111/joim.12465.
  40. *Pillinger N.L., Kam P.* Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 2017; 45 (3): 295–307. DOI: 10.1177/0310057X1704500305
  41. *Gaudette S., Hughes D, Boller M.* The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 2020; 18. DOI: 10.1111/vec.12925.
  42. *Jolana L., Kamil D.* The Role of microRNA in Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Curr Drug Deliv*. 2017; 14 (6): 816–831. DOI: 10.2174/1567201813666160919142212.
  43. *Martinez B., Peplow P.V.* Blood microRNAs as potential diagnostic markers for hemorrhagic stroke. *Neural Regen Res*. 2017; 12 (1): 13–18. DOI: 10.4103/1673-5374.198965.
  44. *Gareev I., Yang G., Sun J., Beylerli O., Chen X., Zhang D., Zhao B., Zhang R., Sun Z., Yang Q., Li L., Pavlov V., Saffin S., Zhao S.* Circulating MicroRNAs as Potential Noninvasive Biomarkers of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2020; 133: e369–e375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.016.
  - сибирской медицины*, 2011; 2: 15–21 [In Russ.]. УДК 616.8: 612.818.91: 577.151/.152
  21. *Топузова М.П., Алексеева Т.М., Панина Е.Б., Вавилова Т.В., Ковзев П.Д., Портник О.А., Скоромец А.А.* The possibility of using neuron-specific enolase as a biomarker in the acute period of stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im S. S. Korsakova*. 2019; 119 (8. Vol. 2): 53–62 [In Russ.]. DOI: 10.17116/jnevro201911908253.
  22. *Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi M.A., Serrano A, Marchese E, Corvino V, Geloso M.C.* The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *The Journal of Neurochemistry* 2019; 148 (2): 168–187. DOI: 10.1111/jnc.14574.
  23. *He Y, Cai Z., Chen Y.* Role of S-100 $\beta$  in stroke. *International Journal of neuroscience* 2018; 128 (12): 1180–1187. DOI: 10.1080/00207454.2018.1481065.
  24. *Nechunaeva E.V., Shumahev G.I., Vorobeva E.N.* Immunobiochemical parameters in the early diagnosis of chronic cerebral ischemia. *Byulleten sibirskoy meditsiny*. 2011; 2: 142–146 [In Russ.]. UDC 616.831-005.4-002.2-072: 612.015/.017
  25. *Audyn I., Algyn A., Poyraz M.K., Yumrutas O.* Diagnostic value of serum glial fibrillary acidic protein and S100B serum levels in emergency medicine patients with traumatic versus nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Nigerian journal of clinical practice*, 2018; 21 (12): 1645–1650. DOI: 10.4103/njcp.njcp\_431\_17.
  26. *Zhou S., Bao J., Wang Y., Pan S.* S100 $\beta$  as a diomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Journal of Neurology Research* 2016; 38 (4): 327–332. DOI: 10.1080/01616412.2016.1152675.
  27. *Shishkina T.V., Vedunova M.V. Mishchenko T.A.* The role of glial neurotrophic factor in the functioning of the nervous system (review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2015; 4 211–220 [In Russ.]. DOI: 10.17691/stm2015.7.4.27 УДК 612.81: 616.8-002-056.7
  28. *Kurakina A.S., Grigoreva V.N.* The role of glial neurotrophic factor in normal and pathological conditions of the nervous system (review). *Meditsina i farmakologiya: elektronnyy nauchnyy zhurnal*. 2016; 10 (32)4-10. URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3749>
  29. *Ibáñez C.F., Andressoo J.O.* Biology of GDNF and its receptors — Relevance for disorders of the central nervous system. *Neurobiology of Disease*, 2017; 97 (Pt B): 80–89. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.01.021.
  30. *Belgore F.M., Blann A.D., Li-Saw-Hee F.L.* Plasma level of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Amer. J. Cardiology*, 2001; 87: 805–807.
  31. *Leung D.W.* Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989; 246 (4935): 1306–1309. DOI: 10.1126/science.2479986
  32. *Theis V, Theiss C.* VEGF — A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein and Peptide Science* 2018; 19 (6): 589–597. DOI: 10.2174/1389203719666180104113937.
  33. *Yang G, Shao G.F.* Elevated serum IL-11, TNF $\alpha$ , and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Journal of the Neurological Sciences*, 2016; 37 (8): 1253–9. DOI: 10.1007/s10072-016-2576-z. 2.
  34. *Spranger M., Krepien S.* Superoxide Dismutase Activity in Serum of Patients With Acute Cerebral Ischemic Stroke; 1997; 28: 2425–2428. DOI: 10.1161/01.STR.28.12.2425
  35. *Pushkina T.A., Tokayev E.S., Popova T.S., Borodina E.N.* Superoxide dismutase as a component of antioxidant therapy: current state of the issue and prospects. a literature review. *Russian Sklifosovsky Journal «Emergency Medical Care»*. 2016; (4): 42–47. 2016; (4): 42–47 [In Russ.].
  36. *Davis S.M., Pennypacker K.R.* Targeting antioxidant enzyme expression as atherapeutic strategy for ischemic stroke. *Neurochemistry international*. 2017; 107: 23–32. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.12.007
  37. *Zeng J., Chen Y., Ding R., Feng L. Fu Z., Yang S., Deng X., Xie Z., Zheng S.* Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- $\kappa$ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *Journal of Neuroinflammation* 2017; 14 (1): 119. DOI: 10.1186/s12974-017-0895-5.
  38. *Bresciani G., da Cruz I.B., González-Gallego J.* Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in clinical chemistry*, 2015; 68: 87–130. DOI: 10.1016/bs.acc.2014.11.001.
  39. *Tarbell J.M., Cancel L.M.* The glycocalyx and its significance in human medicine. *Journal of Internal Medicine*. 2016; 280 (1): 97–113. DOI: 10.1111/joim.12465.
  40. *Pillinger N.L., Kam P.* Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 2017; 45 (3): 295–307. DOI: 10.1177/0310057X1704500305
  41. *Gaudette S, Hughes D, Boller M.* The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 2020; 18. DOI: 10.1111/vec.12925.
  42. *Jolana L., Kamil D.* The Role of microRNA in Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Curr Drug Deliv*. 2017; 14 (6): 816–831. DOI: 10.2174/1567201813666160919142212.
  43. *Martinez B., Peplow P.V.* Blood microRNAs as potential diagnostic markers for hemorrhagic stroke. *Neural Regen Res*. 2017; 12 (1): 13–18. DOI: 10.4103/1673-5374.198965.
  44. *Gareev I, Yang G, Sun J, Beylerli O, Chen X, Zhang D, Zhao B, Zhang R, Sun Z, Yang Q, Li L, Pavlov V, Saffin S, Zhao S.* Circulating MicroRNAs as Potential Noninvasive Biomarkers of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2020; 133: e369–e375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.016.

Received 02.03.2020

Поступила 02.03.2020