

на правах рукописи

Сохина Валентина Сергеевна

**ТРОМБОЦИТАРНЫЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА**

14.01.11 – нервные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Донецк – 2021

Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор
Стафинова Елена Анатольевна
ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО МЗ ДНР
заведующая кафедрой неврологии и медицинской генетики

доктор медицинских наук, профессор
Баринов Эдуард Федорович
ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО МЗ ДНР
заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии

Официальные оппоненты: **Евтушенко Станислав Константинович**
доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры детской и общей неврологии ФИПО
ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО МЗ ДНР

Ефремов Валерий Вильямович
доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры нервных болезней и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ,
г. Ростов-на-Дону

Ведущая организация: Государственное учреждение Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ ЛНР, г. Луганск

Защита состоится « » 2021 года в часов на заседании диссертационного совета Д 01.026.06 при ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» МЗ ДНР по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16, морфологический корпус, электронный зал библиотеки, на базе ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького». Тел. факс: (062) 277-14-54, email: spec-sovet-01-026-06@dnmu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16 (<http://dnmu.ru/>).

Автореферат разослан « » 20 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 01.026.06

Коценко Ю.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сосудистые заболевания головного мозга представляют важнейшую медико-социальную проблему, поскольку занимают одно из первых мест в структуре инвалидности и общей смертности населения в мире (Ковальчук В.В. и соавт., 2017; Mori E. et al., 2016; Klochihina O.A. et al., 2019; Cu W. et al., 2020). В настоящее время наблюдается рост частоты и распространенности хронических форм цереброваскулярной патологии, основным клиническим проявлением которой является хроническая ишемия мозга (Васенина Е.Е. и соавт., 2016; Kim Y.G. et al., 2020).

Сосудистые факторы риска, такие как атеросклероз, артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД), гиперлипидемия, нарушение церебрального кровотока приводят не только к прогрессированию цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ) за счет хронической гипоперфузии, но и неблагоприятно влияют на нейроны, тем самым, усиливают процессы нейродегенерации (Khanevski A.N. et al., 2019; Toledo C. et al., 2019; Altendahl M. et al., 2020; Amidzic A. et al., 2020). Верификация таких механизмов, определение их взаимодействия требуют дальнейшего изучения и поиска новых диагностических критериев.

Неблагоприятное течение хронической ишемии мозга (ХИМ) не редко ассоциировано с СД, при этом патогенез такого развития заболевания изучен недостаточно. Активация полиолового пути окисления глюкозы, увеличение внутриклеточного уровня конечных продуктов гликирования и стимуляция гексозаминового пути способствует атеросклеротическому поражению церебральных сосудов и развитию хронической недостаточности мозгового кровообращения (Franzen S. et al., 2018; Боголепова И.А., 2018).

Ключевую роль в патогенезе ХИМ отводят усилению ренин-ангиотензиновой (РАС) и симпатoadреналовой (САС) систем, нарушению микроциркуляции и развитию гипоксии/ишемии мозга, оксидативному стрессу, нейровоспалению и повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера (Ueno M. et al., 2016; Khoshnam S.E. et al., 2017; Anzell A.R. et al., 2018; Abrahamson E.E. et al., 2020). Влияние патогенетических факторов ХИМ на течение заболевания и развитие сосудистых осложнений проявляется изменениями тромбоцитарного звена гемостаза (Santilli F. et al., 2015; Westein E. et al., 2017; Shilpi K. et al., 2018; Paterson GG. et al., 2020). Клинически значимыми индикаторами развития ХИМ может быть реактивность пуриновых ($P2Y_{1-}$, $P2Y_{12-}$), ангиотензиновых и адренергических рецепторов, ФАТ-рецепторов и GPVI-рецепторов к коллагену, участие которых в дисфункции структур мозга доказано (Yang Y. et al., 2015; Beamer E. et al., 2016; Ongali B. et al., 2018; O'Connor A.T. et al., 2019; Masi S. et al., 2019; Miras-Portugal M.T. et al., 2019).

В настоящее время проводятся исследования функциональной активности тромбоцитов (Тц) у пациентов с инсультами, однако динамика соответствующих показателей и их участие в патогенезе прогрессирования

ХИМ остаются недостаточно изученными (Staals J. et al., 2015; Williamson W. et al., 2018). В связи с этим особую значимость приобретают работы, посвященные анализу реактивности рецепторов Тц у больных ХИМ, которые позволяют контролировать молекулярные механизмы нарушения гемодинамики мозга на разных этапах развития заболевания и разработать модели прогнозирования прогрессирования церебральной ишемии, что и определяет актуальность выбранной темы.

Степень разработанности темы исследования.

ХИМ является одной из актуальных проблем клинической неврологии вследствие значительной распространенности, высокого риска развития осложнений, трудностей диагностики на ранних этапах болезни и недостаточно эффективного лечения. Отсутствие необходимых знаний сдерживает разработку информативных диагностических и эффективных лечебно-профилактических мероприятий, направленных на нейропротекцию мозга. В литературе представлена ограниченная и противоречивая информация об участии Тц в патогенезе ЦВЗ. В этом контексте исследование функциональной активности рецепторного аппарата Тц представляется перспективным, поскольку позволяет анализировать влияние факторов риска на прогрессирование ХИМ.

Связь с научными программами, планами, темами.

Диссертационная работа выполнена на кафедре неврологии и медицинской генетики, а также кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО и является фрагментом научно-исследовательской работы: «Тромбоцитарные маркеры прогрессирования хронической ишемии мозга, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа» (шифр работы УН 19.01.01). Диссертант выполнила фрагмент научно-исследовательской работы, посвященный изучению механизмов развития и прогрессирования ХИМ. Тема диссертации и научные руководители утверждены на заседании Ученого совета ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО, протокол №4 от 30.05.2019 г.

Цель исследования: повысить эффективность диагностики ХИМ на основании анализа функциональной активности рецепторов Тц и разработать модели, которые позволят прогнозировать прогрессирование заболевания.

Задачи исследования:

1. Выявить и оценить клинико-неврологические характеристики ХИМ I, II, III стадий.
2. Оценить изменения активности пуриновых (P2Y₁-, P2Y₁₂-) рецепторов, ангиотензинового рецептора I типа (AT₁-рецептора), α₂-адренергического рецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора у пациентов с ХИМ.
3. Провести сравнительный анализ клинико-неврологических характеристик ХИМ I и II стадий с функциональной активностью рецепторов Тц и определить информативные показатели прогрессирования заболевания.

4. На основе клинико-неврологического обследования и анализа функциональной активности рецепторов Тц установить факторы риска развития ХИМ III стадии и молекулярные механизмы прогрессирования ХИМ от II к III стадии заболевания.

5. Провести сравнительный анализ функциональной активности рецепторов Тц у больных ХИМ и ХИМ ассоциированной с СД 2 типа.

6. Разработать модели, которые позволяют прогнозировать прогрессирование ХИМ на основе факторных признаков риска развития заболевания.

Объект исследования: хроническая ишемия мозга (МКБ 10 – Цереброваскулярные болезни I67).

Предмет исследования: неврологические, нейропсихологические, лабораторные (функциональная активности пуриновых (P2Y₁-, P2Y₁₂-) рецепторов, ангиотензинового AT₁-рецептора, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GP VI- рецептора тромбоцитов) показатели в оценке течения ХИМ.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые приведены доказательства, что ХИМ сопровождается повышением уровня в крови нуклеотидов (АТФ, АДФ) и стимуляцией пуриновых P2Y-рецепторов; активацией PAC и SAC, связанных с развитием АГ, что проявляется увеличением концентрации ангиотензина-2, катехоламинов и стимуляцией AT₁-рецептора и α₂-адренорецептора; системной воспалительной реакцией, связанной со стимуляцией ФАТ-рецепторов тромбоцитов и пуриновых P2-рецепторов лейкоцитов. Представлены новые данные о модулирующем влиянии СД 2 типа на функциональную активность рецепторов Тц, что проявляется повышением их проагрегантного состояния, нарушением микроциркуляции, развитием гипоксии и ишемии мозга.

Впервые доказано, что стереотипными механизмами развития ХИМ являются активация SAC и PAC, отражением чего есть гиперреактивность α₂-адренорецептора и AT₁-рецептора; фактором прогрессии хронической ишемии может быть повышение активности P2Y-рецепторов, отражающее усиление нарушения мозгового кровообращения.

Впервые установлено, что предикторами прогрессирования ХИМ является функциональная активность и взаимодействие P2Y-рецепторов, AT₁-рецептора и α₂-адренорецептора. Впервые разработаны регрессионные прогностические модели прогнозирования развития ХИМ, что позволит обеспечить персонализированную оценку рисков прогрессирования хронического нарушения мозгового кровообращения и эффективное лечение пациентов на ранних этапах заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Для повышения эффективности диагностики ХИМ комплекс клинико-неврологических и клинико-инструментальных методов обследования пациентов целесообразно дополнить определением функциональной

активности и взаимодействия рецепторов тромбоцитов. У пациентов с ХИМ исследование чувствительности АТ₁-рецептора, пуриновых Р2У- (Р2У₁ и Р2У₁₂) рецепторов, рецептора к фактору активации тромбоцитов (ФАТ-рецептора), гликопротеинового рецептора к коллагену (GPVI-рецептор) и α₂-адренорецептора позволяет выявлять дисфункцию Тц, которая предопределяет нарушение микроциркуляции, тромбогенез, развитие системной воспалительной реакции и рекрутирование лейкоцитов в ЦНС. Выявленные показатели активности и взаимодействия рецепторов тромбоцитов могут быть использованы как диагностические критерии ХИМ, что позволит скорректировать медикаментозную терапию с учетом значимости воздействия патогенетических факторов на развитие заболевания.

Предикторами прогрессирования ХИМ являются: активность АТ₁-рецептора, пуриновых Р2У- (Р2У₁ и Р2У₁₂) рецепторов и α₂-адренорецептора. Разработанная трехфакторная модель логистической регрессии позволяет прогнозировать риск развития заболевания в 95,2% (чувствительность теста 95% ДИ 83,8%-99,4%) случаев, при этом специфичность теста составляет 100% (95% ДИ 94,2%-100%). Использование данной модели позволяет выявлять пациентов с высоким риском прогрессирования заболевания.

Методология и методы исследования.

В основу методологии работы положен системный подход, направленный на анализ результатов исследования больных ХИМ. Этапы исследования включали изучение данных литературы, формирование когорты больных с учетом критериев включения и исключения, обследование пациентов, оценка и интерпретация полученных данных. В работе использованы клинико-неврологические, нейропсихологические, клинико-лабораторные, клинико-инструментальные и статистические методы.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Исследование активности рецепторов Тц (анализ кластеров функционально активных рецепторов) у больных ХИМ позволяет уточнить факторы риска и патогенетические механизмы, обеспечивающие прогрессирование заболевания.

2. Стереотипными механизмами развития I-II стадии ХИМ являются активация САС и РАС, что проявляется гиперреактивностью α₂-адренорецептора и АТ₁-рецептора. Фактором прогрессии ХИМ выступает прогрессирующее нарушение мозгового кровообращения, отражением чего является критическое повышение активности Р2У-рецепторов. СД 2 типа является фактором риска развития ХИМ, поскольку сопровождается гиперреактивностью α₂-адренорецептора, АТ₁-рецептора, GPVI-рецептора, Р2У-рецепторов и ФАТ-рецептора на клетках мишенях, что связано с высокой активностью САС и РАС, развитием системной воспалительной реакции и ремоделированием стенки сосудов.

3. Прогрессирование ХИМ от II к III стадии связано с критическим повышением активности Р2У-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-

рецептора, что может быть обусловлено усиливающейся дисрегуляцией пуринергической системы мозга, увеличением тяжести нейровоспаления и нарастающей деградацией компонентов базальной мембраны стенки сосудов. Влияние СД проявляется потенцированием реактивности рецепторов, участвующих в патогенезе ХИМ.

4. Разработка моделей логистической регрессии, основанных на анализе активности рецепторов Тц, обеспечивает высокую точность прогнозирования риска прогрессирования ХИМ.

Степень достоверности полученных данных.

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе, базируется на использовании современных методов исследований, достаточном объеме материала, использовании методик адекватных поставленным задачам и применении современных методов статистического анализа. Все исследования выполнены на качественном и метрологически проверенном оборудовании. Положения, изложенные в диссертации, построены на достаточно изученных и проверяемых фактах, которые согласуются с опубликованными данными.

Апробация результатов исследований.

Основные положения диссертационной работы представлены на научных форумах: III Национальном конгрессе кардионеврологии (Москва, 6-7 декабря 2018г.); VIII Национальном конгрессе патофизиологов Украины (Одесса, 13-15 мая 2020г.); XXI международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 14 апреля 2018г.); научно-практической конференции «Бюллетень XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого» (Одесса, 24-25 мая 2018г.); первой научно-практической конференции «Механизмы развития патологических процессов и болезней и их фармакологическая коррекция (Харьков, 18 октября 2018г.); Всероссийской научно-практической конференции «Медицинская весна–2020» (Москва, 7-8 февраля 2020г.); научно-практической конференции с международным участием «Давиденковские чтения-2020» (Санкт-Петербург, 2020г.); 77 международном медицинском конгрессе молодых ученых (Донецк, 14-15 мая 2015г.); 80 международном медицинском конгрессе молодых ученых (Донецк, 17-18 мая 2018г.); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждает болезнь» (Донецк, 14-15 ноября 2018г.); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждает болезнь» (Донецк, 14-15 ноября 2019г.); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждает болезнь» (Донецк, 12-13 ноября 2020г.); 82 конгрессе молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и практической медицины» (Донецк, 2020г.).

Материалы диссертации заслушаны, обговорены и рекомендованы к представлению в Диссертационный совет Д 01.026.06 на апробационном семинаре по нервным болезням ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО, протокол №2 от 17.11.2020 г.

Личный вклад соискателя.

Диссертация является самостоятельным научным трудом соискателя. В соавторстве с научными руководителями определено методологическое построение работы. Диссертантом самостоятельно проведен информационный и патентный поиски, анализ научной литературы по исследуемой проблеме. Соискатель самостоятельно осуществила подбор и рандомизацию больных в группы, провела клинко-неврологическое обследование и нейропсихологическое тестирование пациентов. Автором проведены исследования функциональной активности Тц в лаборатории агрегатологии кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО. Статистическая обработка результатов клинических и лабораторных исследований, анализ и обобщение полученных результатов выполнен соискателем самостоятельно. Формулировка основных научных положений и выводов диссертации выполнены соискателем совместно с научными руководителями. В научных работах, опубликованных по материалам диссертации в соавторстве, соискателю принадлежала ведущая роль в формулировании задач, выполнении клинко-лабораторных исследований, статистической обработке и анализе результатов. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций.

Внедрение в практику. Результаты проведенного исследования внедрены в практическую деятельность неврологических отделений №1, №2 Донецкого территориального медицинского объединения г. Донецка МЗ ДНР, отдел экспериментальной хирургии Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака г. Донецка, неврологическое отделение ГБ №2 МЗ ДНР г. Макеевки, неврологическое отделения ГБ №7 МЗ ДНР г. Макеевки, научно-исследовательскую работу кафедры неврологии и медицинской генетики, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М. ГОРЬКОГО.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 работ в научных изданиях, рекомендуемых ВАК, 5 из которых – ВАК ДНР, РИНЦ РФ, одна - без соавторов; 2- ВАК РФ, РИНЦ РФ и 14 тезисов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 206 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, анализа и обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, насчитывающего 290 наименований (из них 19 – отечественных и 271 – зарубежных источников). Диссертация содержит 68 таблиц и иллюстрирована 7 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования.

Исследование носило проспективный характер, является одномоментным, типа «случай-контроль». В исследование включили 107 пациентов с диагнозом ХИМ, которые находились на стационарном лечении

в 1 и 2 неврологических отделениях ДОКТМО с 2014 по 2020 год. Диагноз ХИМ устанавливался при наличии основного сосудистого заболевания (атеросклероз, АГ), признаков поражения головного мозга, причинно-следственной связи между клиническими проявлениями и цереброваскулярными заболеваниями. Критериями включения пациентов в исследование были: установленный диагноз ХИМ, СД 2 типа, выполненное МРТ головного мозга, наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения были: психические заболевания, тяжелая соматическая патология в стадии декомпенсации, СД 1 типа, прием антиагрегантов и статинов в течение последних 6 месяцев, ишемический инсульт в остром и восстановительном периоде.

В результате анализа жалоб, анамнеза заболевания, неврологического статуса, данных МРТ головного мозга, ультразвукового исследования брахиоцефальных артерий пациенты были распределены на три группы согласно стадиям дисциркуляторной энцефалопатии (Шмидт Е.В., 1976; Яхно Н.Н., 2007; Левин О.С., 2015): 1-я группа включала 25 пациентов (68% женщин и 32% мужчин), средний возраст которых составил $58,1 \pm 2,3$ лет с ХИМ I стадии, 2-я – представлена 37 пациентами (женщин 56,8% и 43,2% мужчин), возраст $66,5 \pm 1,6$ лет с ХИМ II стадии и 3-я группа включала 45 пациентов (55,6% женщин и 44,4% мужчин), возраст $70,0 \pm 1,8$ лет с ХИМ III стадии. При распределении межгрупповые сопоставления показали, что возраст пациентов и гендерные различия статистически значимо не различались ($p > 0,05$). Поскольку гипергликемия является одним из факторов риска атеросклероза, АГ и развития церебральной микроангиопатии (Li Q. et al., 2018; Xie Y. et al., 2019; Kim YG. et al., 2020), была выделена группа пациентов с ХИМ и СД 2 типа (ХИМСД). В 1-й группе ХИМСД была выявлена у 15 (60%) больных, во 2-й у 22 (59,5%) и в 3-й у 30 (66,7%) пациентов. Выделение группы пациентов с СД позволило изучить модулирующее воздействие гипергликемии на функциональную активность рецепторов Тц, которое влияло на анализ результатов агрегатометрии в общей когорте обследуемых. Контрольная группа (КГ) включала 10 «практически здоровых» добровольцев и была сопоставима по возрасту с пациентами, у которых подтвержден диагноз ХИМ.

Комиссией по этическим вопросам и биоэтике ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО (протокол № 66/5-1 от 05.10. 2020 г.) установлено, что все научные исследования с участием пациентов осуществлялись согласно биоэтических норм.

Всем пациентам проведено неврологическое, физикальное обследование, общеклинические и биохимические обследования на момент госпитализации. Для выявления психоэмоциональных нарушений использовались: шкала самооценки Спилбергера–Ханина, госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS). Степень выраженности когнитивного дефицита оценивали по краткой шкале оценки психического статуса MMSE,

Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA), батарее тестов для оценки лобной дисфункции (FAB).

Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегатометрии (Harrison P. et al., 2011). Анализ функционального состояния рецепторов Тц проводили *in vitro* до начала терапии. В исследовании применяли агонисты рецепторов, участвующих в патогенезе ХИМ, в частности: АДФ (аденозиндифосфат, лиганд пуриновых P2Y-рецепторов), ангиотензин-2 (лиганд AT₁-рецептора), фактор активации тромбоцитов (лиганд ФАТ-рецептора), адреналин (неселективный лиганд α_2 -адренорецептора); коллаген IV-типа (лиганд GPVI-рецептора); фирма производитель реактивов «Sigma-Aldrich Chemie GmbH» (Германия). Оценку агрегации тромбоцитов (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США). Характеристика кластеров функциональной активности рецепторов Тц отражает степень тяжести ХИМ и использовалась для диагностики заболевания.

Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета EZR v.1.35 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan), представляющего собой графический интерфейс (The R Foundation for Statistica Computing, Vienna, Austria) (Гур'янов В.Г., 2018; Kanda Y., 2013). Адекватность регрессионной модели оценивали по скорректированному показателю детерминации ($R^2_{adjusted}$). Использовали критерий Фишера, критерий хи-квадрат для сравнения качественных признаков; критерий Крускала-Уоллиса для сравнения количественных признаков, методы множественных сравнений; корреляционный анализ, методы построения и анализа математических моделей множественной линейной и логистической регрессии.

Результаты собственных исследований и их обсуждение.

У больных с I стадией ХИМ и ХИМСД основу клинической картины составили астенический и цефалгический синдромы. Нейропсихологическое исследование по MMSE пациентов достоверно не выявило нарушений - общий показатель когнитивной производительности находился в пределах $28,0 \pm 0,5$ балла (95% ДИ 26,0-29,0 балла). У пациентов с ХИМСД отсутствовали статистически значимые различия ориентации, вербальной памяти, счетных операций и функций гнозиса. В 48% случаев основным этиологическим фактором была АГ, смешанный вариант (АГ+атеросклероз) встречался в 28%. У 10% пациентов с I стадией выявлена гиперреактивность α_2 -адренорецептора, AT₁-рецептора и нормореактивность GPVI-рецептора и ФАТ-рецептора. Сопоставление активности рецепторов Тц у пациентов при наличии и отсутствии СД2 типа показало, что гипергликемия является фактором риска развития I стадии, поскольку сопровождается гиперреактивностью GPVI-рецептора и ФАТ-рецептора ($p < 0,001$).

У пациентов с ХИМ II стадии выявили пирамидный (64,8%), вестибуло-атактический (29,7%) и паркинсонический (5,4%) синдромы. При

ХИМСД статистически значимая разница частоты жалоб и неврологических синдромов с ХИМ II стадии отсутствовала. При II стадии более часто имел место смешанный вариант ХИМ (АГ+атеросклероз); влияние СД проявлялось увеличением ($P=0,032$) частоты встречаемости АГ.

Выявлено наличие когнитивных нарушений - общий показатель когнитивной продуктивности находился в пределах $26,3 \pm 0,3$ балла, что несколько ниже ($p=0,006$), чем у пациентов с I стадией. У пациентов имело место снижение скорости выполнения лобно-исполнительных функций, которые проявлялись в замедлении обработки информации, снижении рабочей памяти и способности к переключению с одного вида деятельности на другой, отмечались трудности концентрации внимания. Выявлена психомоторная замедленность и снижение скорости реакций по сравнению с пациентами с I стадией. Наличие СД у пациентов проявлялось снижением показателя счетных операций и показателя когнитивной продуктивности.

Гиперреактивность рецепторов Тц воспроизводили адреналин, Ан-2 и АДФ. Для ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора была характерна нормореактивность. Активность α_2 -адренорецепторов превышала таковую P2Y-рецепторов на 17% ($p < 0,001$), ФАТ-рецептора на 25,7% ($p < 0,001$) и GPVI-рецептора на 31% ($p < 0,001$). Кластер активности рецепторов Тц можно представить следующим образом: активность α_2 -адренорецептора = активности АТ₁-рецептора > активности P2Y-рецепторов = активности ФАТ-рецептора > активности GP VI-рецептора. Анализ взаимодействия рецепторов показал, что активация PAC связана с гипоксией/ишемией мозга и усилением системного влияния SAC (корреляция между активностью АТ₁- и P2Y-рецепторами $r=0,587$; $p < 0,05$, а между активностью АТ₁-рецептора и α_2 -адренорецептора $r=0,829$; $p < 0,05$). Если сопоставить активность рецепторов у пациентов с I и II стадиями ХИМ при отсутствии СД, то можно прийти к заключению, что стереотипными участием в механизмах развития ХИМ являлись активация SAC и PAC, поскольку сохранялась гиперреактивность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора. Фактором прогрессии ХИМ было повышение активности P2Y-рецепторов на 17% ($P < 0,001$) относительно таковой при I стадии. Критический порог АДФ-индуцированной АТц (АДФcrit) составил 54%. При значении показателя АДФcrit >54% у пациентов имела место II стадия ХИМ, а при значении АДФcrit <54% – I стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%) и специфичность – 60% (95% ДИ 26,2%-87,8%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,830 (95% ДИ 0,627 –0,949). При исследовании пациентов с ХИМСД II стадии установлено повышение активности P2Y-рецепторов на 10,3%, ($p < 0,001$), АТ₁-рецептора на 9,3%, ($p < 0,001$), ФАТ-рецептора на 10,7%, ($p < 0,001$) и GPVI-рецептора на 18,3% ($p < 0,001$) по сравнению с таковой у больных с II стадией при отсутствии СД (табл. 1).

Таблица 1– Различия индуцированной АТц (%) у больных с ХИМ II стадии при наличии и отсутствии СД 2 типа

Индуктор АТц	ХИМ (n=15)		ХИМСД (n=22)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max _I	$\bar{X} \pm m$	Min–Max _I
Адреналин (5,0 мкМ)	68,0±0,6	65,0-74,0	67,4±1,1	56,0-77,0
АДФ (5 мкМ)	58,1±0,7	54,0-63,0	64,1±1,1 p<0,001	55,0-75,0
Ан-2 (1,0 мкМ)	66,9±1,1	58,0-72,0	73,1±0,9 p<0,001	65,0-80,0
ФАТ (150,0 мкМ)	54,1±0,8	48,0-58,0	59,9±1,1 p<0,001	48,0-70,0
Коллаген (1,0 мг/мл)	51,9±0,8	47,0-57,0	61,4±1,1 p<0,001	50,0-69,0
Примечание. p – вероятность различий АТц при ХИМСД относительно такой у пациентов с ХИМ без СД.				

Таким образом, влияние СД связано с активацией РАС, развитием системной воспалительной реакции и ремоделированием стенки сосудов, что и предопределяет развитие ишемии мозга. Наиболее информативными показателями прогрессирования ХИМСД, по данным анализа ROC кривых, оказалась активность P2Y-рецепторов и АТ₁-рецептора. Критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) составил 54%, тогда как АТ₁-рецептора (АТ₁crit) – 71%.

Для всех пациентов с ХИМ III стадии характерным клиническим проявлением заболевания было стойкое мнестико-интеллектуальное снижение, которое проявлялось значительным снижением памяти, концентрации внимания, трудностями обобщения, абстрагирования и переключения. При ХИМ III стадии у пациентов наиболее часто встречалось сочетание гипертонического и атеросклеротического варианта заболевания (82,2%); наличие СД существенно увеличивала (P=0,045) частоту коморбидности АГ с атеросклерозом. Выявлены статистически значимые отличия частоты различных вариантов ХИМСД при II и III стадиях заболевания. Если при ХИМСД II стадии наиболее часто встречался гипертонический вариант, то при ХИМСД III стадии доминировало сочетание АГ с атеросклерозом.

Нейропсихологические нарушения, по сравнению с таковыми при II стадии заболевания, имели тенденцию к прогрессированию. Так, на 11,7% (p< 0,001) снижались значения показателя ориентации –с 9,1±0,1 баллов (95% ДИ 8,9-9,3 баллов) при II стадии ХИМ и до 7,9±0,1 баллов (95% ДИ 7,6-8,1 баллов) при III стадии заболевания. Показатель счетных операций уменьшался на 13,6% (p< 0,001) с 4,5±0,1 баллов (95% ДИ 4,4-4,7 баллов) при II стадии до 3,9±0,1 баллов (95% ДИ 3,7-4,1 баллов) при III стадии. Общий

показатель когнитивной производительности при III стадии был на 12,8% ($p < 0,001$) меньше, чем при II стадии, соответственно $22,9 \pm 0,3$ балла (95% ДИ 22,2-23,6 балла) и $26,3 \pm 0,3$ балла (95% ДИ 25,7-26,8 балла). Наличие СД у пациентов с III стадией проявлялось снижением показателя ориентации на 8,4% ($P = 0,009$), счетных операций на 14% ($P = 0,022$) и общего показателя когнитивной продуктивности на 7,1%.

У пациентов с III стадией все исследованные агонисты воспроизводили гиперреактивность рецепторов Тц, причем максимальную реактивность воспроизводили P2Y-рецепторы и AT₁-рецептор, а минимальную – α₂-адренорецептор. При отсутствии СД кластер активности рецепторов Тц можно представить следующим образом: активность AT₁-рецептора = активности P2Y-рецепторов > активности α₂-адренорецептора > активности ФАТ-рецептора = активности GP VI-рецептора. Причем, активность AT₁-рецептора превышала таковую α₂-адренорецепторов на 7,8% ($p < 0,01$), ФАТ-рецептора на 16,8% ($p < 0,001$) и GPVI-рецептора на 17,4% ($p < 0,001$). Если сопоставить активность рецепторов у пациентов с II и III стадиями при отсутствии СД, то можно сделать вывод, что сохранялись стереотипные механизмы развития ХИМ (активация PAC и SAC), поскольку при прогрессировании заболевания гиперреактивность AT₁-рецептора и α₂-адренорецептора значимо не изменялась. Механизмы, ответственные за прогрессирование ХИМ, связаны с повышением активности P2Y-рецепторов на 20,3% ($P < 0,001$), ФАТ-рецептора на 11,3% ($P < 0,001$) и GPVI-рецептора на 15,4% ($P < 0,001$). В этой связи значимыми факторами риска прогрессии от II к III стадии являются усиливающиеся процессы дисрегуляции пуринергической системы мозга, увеличение тяжести системной воспалительной реакции связанной с активацией лейкоцитов и выраженность ремоделирования стенки сосудов.

Для выявления критического уровня повышения активности рецепторов Тц, отражающих переход от II к III стадии ХИМ был проведен анализ ROC кривых. При выборе оптимального порога принятия решения установлен критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) на уровне 62%. При значении показателя P2Y-R crit >62% у пациентов имела место III стадия, при значении показателя АДФcrit ≤62% – II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%) и специфичность – 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,996 (95% ДИ 0,967 - 1,000) свидетельствует об очень сильной связи уровня показателя активности P2Y-рецептора с риском прогрессирования ХИМ. Критический порог активности ФАТ-рецептора (ФАТcrit) находился на уровне 56%. При значении показателя ФАТcrit >56% у пациентов выявлялась III стадия ХИМ, а при значении показателя ФАТcrit <56% – ХИМ II стадии. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 86,7% (95% ДИ 59,5%-98,3%) и специфичность – 73,3% (95% ДИ 44,9%-92,2%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC =

0,858 (95% ДИ 0,682 – 0,958). Критический порог GPVI-рецептора (GPVI-Rcrit) составляет 57%. При значении показателя GPVI-R crit >57% у пациентов имела место III стадия, при значении показателя GPVI-R crit <57% – II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 86,7% (95% ДИ 59,5%-98,3%) и специфичность – 100% (95% ДИ 78,2%-100,0%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,962(95% ДИ 0,821 – 0,999).

Таким образом, проведенный анализ позволил установить критические уровни для трех рецепторов, стимуляция которых является фактором риска прогрессирования заболевания: для P2Y-рецепторов такой уровень составил 62% или более, для ФАТ-рецептора- 56% или более, для GPVI-рецептора- 57% или более.

У пациентов с ХИМСД выявлена гиперреактивность всех изученных рецепторов Тц, свидетельствующая о потенцировании эффектов воздействия ХИМ и СД на клетки-мишени. Наиболее выраженный эффект воспроизводил АДФ. Активность P2Y-рецепторов превышала таковую АТ₁-рецептора на 5,6% (P<0,001), GPVI-рецептора на 11,8% (p <0,001), ФАТ-рецептора на 13,9% (p <0,001) и α₂-адренорецепторов на 28,2% (P<0,001). Кластер активности рецепторов Тц у пациентов с III стадией ХИМСД выглядел следующим образом: активность P2Y рецептора > активности АТ₁-рецептора > активности GPVI-рецептора = активности ФАТ-рецептора > активности α₂-адренорецептора. Выявленная связь активности P2Y-рецепторов с длительностью СД (r= 0,583; p<0,05), величиной общего показателя когнитивной производительности (r=-0,487; p<0,05) и активностью α₂-адренорецептора (r=0,360; p<0,05) подтверждают участие внеклеточных нуклеотидов и отражают возможные механизмы нарушения когнитивной функции пациентов при ХИМСД (Reichenbach N. et al., 2018; Zheng F. et al., 2019; Cserép C. et al., 2020; Zhang PA. et al., 2020). Взаимосвязь P2Y-рецепторов с ФАТ-рецептором (r=0,380; p<0,05) и GPVI-рецептором (r=0,471; p<0,05) подтверждает участие пуриновых рецепторов в развитии воспаления (Suzuki T. et al., 2020) и ремоделировании сосудистой стенки при гипертензии (Sunggip C. et al., 2017). Корреляция высокой силы между активностью ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора (r=0,808; p<0,05) свидетельствует о возможности повышения экспрессии матриксных металлопротеиназ в нейтрофилах, что обеспечивает ремоделирование стенки сосудов. Повышение уровня растворимого коллагена в циркулирующей крови, как следствие деградации молекул внеклеточного матрикса соединительной ткани при III стадии обусловлено длительностью СД (r=0,711; p<0,05) и гипергликемией (r=0,583; p<0,05). Ключевую роль в деградации коллагена играют лейкоциты (r=0,808; p<0,05).

Сопоставительный анализ функциональной активности рецепторов при II и III стадиях ХИМСД выявил: (а) повышение активности P2Y-рецепторов на 24% (p<0,001), что отражает – значимое снижение мозгового кровообращения при III стадии заболевания; (б) сохранение

гиперреактивности АТ₁-рецептора, что возможно при стабильно высоком уровне ангиотензина-2 в крови у пациентов с II и III стадиями заболевания; (в) усиление гиперреактивности ФАТ-рецептора (на 16,5%; $p < 0,001$), как результат продолжающейся активации лейкоцитов, и GPVI-рецептора (на 15,8%; $p < 0,001$) по сравнению с II стадией ХИМСД, что отражает возрастающее ремоделирование стенки сосудов и ВКМ мозга; (г) сохранение гиперреактивности α_2 -адренорецептора, несмотря на выявленное снижение их активности (на 8%; $p < 0,001$). Таким образом, патогенетические механизмы ХИМСД у пациентов с II и III стадиями заболевания являются стереотипными, но отличаются степенью гиперреактивности рецепторов клеток-мишеней. Наиболее информативными показателями по данным анализа ROC кривых оказалась активность трех рецепторов – P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора, стимуляция которых являлась фактором риска прогрессирования ХИМ при наличии СД.

Критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) составил 71%. При значении показателя P2Y-R crit $>71\%$ у пациентов имела место III стадия ХИМСД, при значении показателя P2Y-R crit $<71\%$ – ХИМСД II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляла 93,3% (95% ДИ 77,9%–99,2%) и специфичность – 95,4% (95% ДИ 77,2%–99,9%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,990 (95% ДИ 0,913 –1,000). Критический порог активности ФАТ-рецептора (ФАТcrit) составил 66%. При значении показателя ФАТcrit $>66\%$ у пациентов имеет место III стадия ХИМСД, при значении показателя ФАТcrit $<66\%$ – II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 83,3% (95% ДИ 65,3%–94,4%) и специфичность – 95,4% (95% ДИ 77,2%–99,9%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,954 (95% ДИ 0,857 –0,993). Критический порог активности GPVI-рецептора (GP VI-R crit) составил 67%. При значении показателя GPVI-R crit $>67\%$ у пациентов имеет место III стадия ХИМСД, при значении показателя GPVI-R crit $<67\%$ - присутствует ХИМСД II стадии. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 100,0% (95% ДИ 88,4%–100,0%) и специфичность – 90,9% (95% ДИ 70,8%–98,9%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,989 (95% ДИ 0,912 –1,000).

Для создания математических моделей прогнозирования прогрессирования заболевания необходимо было установить связь ХИМ со значением показателей функциональной активности изученных рецепторов (использовались методы парного корреляционного анализа и построения моделей линейной регрессии (обобщенные регрессионные модели)).

Выявлена сильная связь активности P2Y- (P2Y₁ и P2Y₁₂-) пуриновых рецепторов со стадиями заболевания ($\rho = 0,874$ при $p < 0,001$), средней силы – с активностью АТ₁-рецептора, α_2 -адренорецептора, слабая связь – с активностью ФАТ-рецептора с длительностью СД. Таким образом, четыре фактора риска вызывают прогрессирование заболевания: гипоксия/ишемия

мозга, которая сопровождается повышением содержания в крови нуклеотидов (АТФ и АДФ) и активацией пуриновых P2Y-рецепторов; АГ при активации РАС и САС, следствием чего является гиперреактивность ангиотензиновых АТ₁-рецепторов и α₂-адренорецепторов; системная воспалительная реакция, в основе которой лежит взаимодействие Тц и лейкоцитов посредством стимуляции ФАТ-рецептора и P2Y-рецепторов, а также длительность СД. Наличие корреляции средней силы (p<0,05) между активностью АТ₁-рецептора и P2Y-рецептора, а также слабой силы (p<0,05) между активностью АТ₁-рецептора и таковой GP1V-рецептора и ФАТ-рецептора свидетельствует, что при прогрессировании ХИМ эффект активации РАС зависит в большей степени от нарушения мозгового кровообращения, чем от развития воспаления и ремоделирования ВКМ. Корреляционная связь средней силы (p<0,05) проявляется в отношении взаимодействия P2Y-рецептора с таковой АТ₁-рецептора и GPVI рецептора, тогда как между активностью P2Y-рецептора и АТ-рецептора, α₂-адренорецептора имела место связь слабой силы (p<0,05). Нарушение мозгового кровообращения, отражением чего является гиперреактивность P2Y-рецепторов Тц, является фактором риска прогрессирования ХИМ. При этом снижение перфузии мозга зависит в большей степени от активации РАС и ремоделирования ВКМ, чем от активации САС и развития воспаления. В исследовании выявлена связь ФАТ-рецептора (p<0,05) высокой силы с активностью GPVI- рецептора, средней силы - с активностью P2Y-рецептора, слабой силы с активностью α₂-адренорецептора и АТ₁-рецептора. Поскольку реактивность ФАТ-рецептора отражает развитие системной воспалительной реакции и нейровоспаления, то вероятно данный процесс связан с ремоделированием стенки сосудов и ВКМ мозга, причем стимуляция Тц, лейкоцитов в большей степени зависит от состояния пуринергической системы организма, чем от активации РАС и САС.

При прогрессировании ХИМ установлена связь α₂-адренорецептора средней силы с активностью GPVI-рецептора и P2Y-рецептора (p<0,05) и слабой силы с активностью ФАТ-рецептора (p<0,05). Можно прийти к заключению, что активация САС зависит в большей степени от нарушения мозгового кровообращения и ремоделирования стенки сосудов, чем от развития воспаления. Что касается роли GPVI-рецептора в инициации молекулярных механизмов связанных с ремоделированием ВКМ при прогрессировании ХИМ, то обращает на себя внимание связь высокой силы активности GPVI-рецептора с таковой ФАТ-рецептора, средней силы - с активностью P2Y-рецептора и α₂-адренорецептора, слабой силы с активностью АТ₁-рецептора (p<0,05). Таким образом, ремоделирование стенки сосудов и ВКМ мозга зависит в большей степени от системной воспалительной реакции (активности Тц, лейкоцитов и глии), чем от нарушения мозгового кровообращения и активации САС.

Приведенная выше сложность взаимодействия исследованных рецепторов при прогрессировании заболевания диктует необходимость

моделирования этого процесса, что позволило бы прогнозировать вероятность прогрессирования заболевания. На первом этапе была проанализирована связь риска развития III стадии ХИМ с семью факторными признаками: длительностью СД, концентрацией глюкозы в крови, активностью АТ₁-рецептора, пуриновых Р2У- (Р2У₁ и Р2У₁₂) рецепторов, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора к коллагену. При этом использовали метод построения однофакторной модели логистической регрессии. Проведенный анализ свидетельствует о наличии связи риска развития III стадии ХИМ с каждым из представленных признаков. Так, установлено, что III стадия чаще встречается при увеличении длительности СД 2 типа ($p = 0,001$) – ОШ = 1,2 (95% ДИ 1,1-1,3) на каждый год СД; повышении концентрации глюкозы в крови ($p = 0,014$) – ОШ = 1,2 (95% ДИ 1,0-1,4) на каждую единицу (ммоль/л) прироста данного показателя; увеличении активности Р2У-рецептора ($p < 0,001$) – ОШ = 1,4 (95% ДИ 1,2-1,6) на каждую единицу прироста (1% АТц-индуцированной АДФ); увеличении активности GPVI-рецептора ($p < 0,001$) – ОШ = 1,3 (95% ДИ 1,2-1,4) на каждую единицу прироста (1% повышения АТц-индуцированной коллагеном); увеличении активности ФАТ-рецептора ($p < 0,001$) – ОШ = 1,2 (95% ДИ 1,1-1,3) на каждую единицу прироста данного показателя (1% повышения АТц-индуцированной ФАТ). Также выявлено снижение риска развития III стадии при увеличении активности α₂-адренорецептора ($p < 0,001$) – ОШ = 1,3 (95% ДИ 1,2-1,5) на каждую единицу прироста данного показателя (1% повышения АТц-индуцированной адреналином).

В наибольшей степени риск прогрессирования ХИМ оказался связанным с уровнем АДФ-индуцированной АТц (активностью Р2У-рецепторов); площадь под кривой операционных характеристик для модели, рассчитанной на основании значений данного индикатора достигает 0,968 (AUC=0,968; 95% ДИ 0,92-0,99). Данный факт свидетельствует о высокой диагностической значимости предлагаемого теста для выявления больных с риском прогрессирования ХИМ. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог АДФ-индуцированной АТц (АДФcrit) = 67%. При значении показателя АДФcrit >67% у пациентов прогнозируется III стадия, при значении показателя АДФcrit ≤67% – I-II стадии. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 88,8% (95% ДИ 75,9%-96,3%) и специфичность – 91,9% (95% ДИ 82,2%-97,3%); прогностичность положительного результата 88,8% (95% ДИ 77,4%-94,9%), прогностичность отрицательного результата 91,9% (83,3%-96,3%).

Для повышения точности прогноза прогрессирования ХИМ представлялось оправданным использовать метод построения и анализа многофакторных логистических моделей регрессии. В результате анализа выявлено три признака, сильно связанных с прогрессированием ХИМ: активность АТ₁-рецептора, пуриновых Р2У-рецепторов и α₂-адренорецептора (табл. 2). Логистическая модель регрессии, построенная на

выделенных признаках – адекватная ($\chi^2 = 126$ при 3-х степенях свободы, $p < 0,001$). Площадь под кривой операционных характеристик модели AUC = 0,99 (95% ДИ 0,96 - 1,00), что свидетельствует о сильной связи риска прогрессирования ХИМ с показателями активности АТ₁-рецептора, Р2У-рецептора и α_2 -адренорецептора.

Таблица 2 – Характеристики трехфакторной модели логистической регрессии прогнозирования риска прогрессирования ХИМ

Факторный признак	Значение коэффициента модели, $b \pm m$	Уровень значимости p различия коэффициента модели от 0	Показатель отношения шансов, ОШ (95% ДИ)	Площадь под кривой операционных характеристик, AUC (95% ДИ)
Активность АТ ₁ -рецептора	1,58±0,72	0,029	4,9 (1,2–20)	0,998 (0,96–1,00)
Активность Р2У-рецептора	0,48±0,19	0,009	1,6 (1,1–2,3)	
Активность α_2 -адренорецептора	-0,39±0,11	0,013	1,2 (1,0–1,4)	

Установлено, что риск прогрессирования возрастает ($p=0,029$) при увеличении активности АТ₁-рецептора – ОШ = 4,9 (95% ДИ 1,2-20) на каждую единицу прироста данного показателя (при стандартизации показателей активности Р2У-рецепторов и α_2 -адренорецептора). Выявлен рост ($p=0,009$) риска III стадии ХИМ при увеличении активности Р2У-рецепторов – ОШ = 1,6 (95% ДИ 1,1-2,3) на каждую единицу прироста данного показателя (при стандартизации показателей активности АТ₁-рецептора и α_2 -адренорецептора).

Установлено также снижение ($p = 0,013$) риска прогрессирования ХИМ при увеличении активности α_2 -адренорецептора – ОШ = 1,2 (95% ДИ 1,0-1,4) на каждую единицу прироста данного показателя (при стандартизации показателей активности АТ₁-и Р2У-рецепторов). При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог $Y_{\text{крит.}} = 0,74$. При значении показателя $Y > 0,74$ у больного прогнозируется прогрессирование ХИМ, при значении показателя $Y \leq 0,74$ – I-II стадии заболевания (рис.). Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 95,2% (95% ДИ 83,8% -99,4%) и специфичность теста 100% (95% ДИ 94,2% -100%).

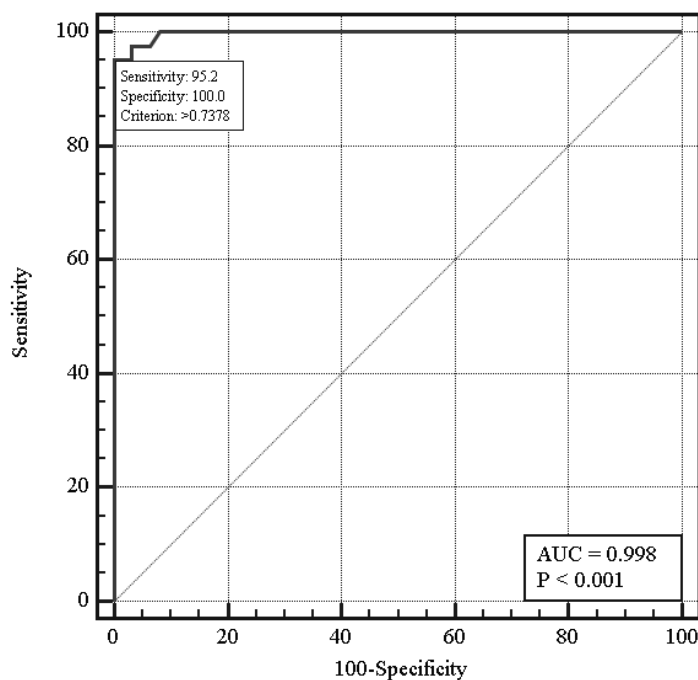


Рисунок – ROC-кривая 3-х факторной модели логистической регрессии прогнозирования риска прогрессирования ХИМ

Таким образом, дополнительный (к значению показателя активности P2Y-рецептора) учет уровня показателей активности АТ₁-рецептора и α₂-адренорецептора позволяет повысить точность прогнозирования риска прогрессирования ХИМ с 88,8% до 95,2%. Создание моделей, основанных на анализе активности рецепторов Тц, представляется перспективной научной задачей, поскольку может привести к улучшению профилактических и терапевтических стратегий при ХИМ. Приведенные доказательства активации и взаимодействия пуриновых P2Y-рецепторов, ангиотензинового АТ₁-рецептора, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора могут быть основанием для разработки новых методов таргетной терапии и профилактики развития и прогрессирования ХИМ, направленных на ограничение гипоксии/ишемии мозга, активации PAC и SAC, системной воспалительной реакции и нейровоспаления, ремоделирования стенки сосудов и ВКМ мозга.

ВЫВОДЫ

В диссертации изучено влияние гуморальных факторов патогенеза хронической ишемии мозга на тромбоцитарное звено гемостаза и достигнуто современное решение актуальной научной задачи в области неврологии – усовершенствовать диагностику ХИМ на основе анализа кластера активности рецепторов тромбоцитов.

1. У больных с I стадией ХИМ основу клинической картины составили астенический и цефалгический синдромы. Общий показатель когнитивной производительности находился в пределах $28,0 \pm 0,5$ балла (95% ДИ 26,0-29,0 балла). У пациентов с ХИМ II стадии выявлены пирамидный, вестибуло-

атактический, паркинсонический синдромы и когнитивные нарушения. Общий показатель когнитивной продуктивности находился в пределах $26,3 \pm 0,3$ балла. Для всех пациентов с ХИМ III стадии характерным проявлением заболевания было стойкое мнестико-интеллектуальное снижение. Значение показателя ориентации снизилось на 11,7% ($p < 0,001$), счетных операций - на 13,6% ($p < 0,001$), общий показатель когнитивной производительности уменьшился на 12,8% ($p < 0,001$) по сравнению с таковыми при II стадии заболевания. Наличие СД у пациентов с III стадией проявлялось снижением показателя ориентации на 8,4% ($P=0,009$), счетных операций на 14% ($P=0,022$) и общего показателя когнитивной продуктивности на 7,1% ($P=0,017$).

2. У больных ХИМ выявлены изменения в тромбоцитарном звене гемостаза, которые проявляются повышением активности P2Y-рецепторов тромбоцитов ($p < 0,001$); артериальной гипертензией, возникающей при активации ренин-ангиотензиновой и симпато-адреналовой систем организма, что характеризуется стимуляцией ангиотензинового AT₁-рецептора и α_2 -адренорецептора ($p < 0,001$); нейровоспалением, которое проявляется гиперреактивностью ФАТ-рецепторов ($p < 0,001$); ремоделированием стенки сосудов, отражением чего является увеличение активности GPVI-рецептора ($p < 0,001$).

3. Анализ активности мембранных рецепторов тромбоцитов позволяет объективизировать динамику развития ХИМ. Для I стадии заболевания характерна гиперреактивность α_2 -адренорецептора и AT₁-рецептора; наличие у пациентов СД дополняется повышением активности GPVI-рецептора и ФАТ-рецептора ($p < 0,001$). При II стадии выявлялась гиперреактивность α_2 -адренорецептора, AT₁-рецептора и пуриновых P2-рецепторов; ХИМСД сопровождалась приростом ($p < 0,001$) активности P2Y-рецепторов, AT₁-рецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора.

4. Фактором прогрессии на I-II стадиях ХИМ было повышение активности P2Y-рецепторов ($P < 0,001$), что проявлялось прогрессированием заболевания. При значении критического порога P2Y-рецепторов (P2Y-crit) $>54\%$ у пациентов диагностировалась II стадия ХИМ, а $<54\%$ – I стадия заболевания. При наличии ХИМСД наиболее информативными показателями прогрессирования ХИМ от I к II стадии, являлась активность P2Y-рецепторов и AT₁-рецептора. Критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) составляет 54%; для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста достигает 100% (95% ДИ 84,6-100,0%) и специфичность – 100,0% (95% ДИ 78,2-100,0%). Критический порог активности AT₁-рецептора (AT₁crit) находится на уровне 71%. При значении показателя AT₁crit $>71\%$ у пациентов была II стадия ХИМ. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 72,7% (95% ДИ 49,8%-89,3%) и специфичность – 86,7% (95% ДИ 59,5%-98,3%).

5. При III стадии ХИМ максимальную реактивность воспроизводили P2Y-рецепторы и АТ₁-рецептор, а минимальную – α₂-адренорецептор; ХИМСД характеризовалась повышением реактивности P2Y-рецепторов (на 22,3%, p<0,001), АТ₁-рецептора (на 7,1%, p<0,001), GPVI-рецептора (на 18,5% p<0,001) и ФАТ-рецептора (на 15,9%, p<0,001) по сравнению с таковой у пациентов с ХИМ без СД. Наиболее информативными показателями прогрессирования ХИМ была активность трех рецепторов – P2Y-рецепторов, ФАТ- и GPVI-рецепторов. При ХИМ критический уровень P2Y-рецепторов составляет 62% или более, ФАТ-рецептора- 56% или более, GPVI-рецептора- 57% или более. При ХИМСД критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) достигает 71%, ФАТ-рецептора (ФАТcrit) – 66% и GPVI-рецептора (GP VI-R crit) 67%.

6. Предиктором прогрессирования ХИМ является взаимодействие пуриновых P2Y-рецепторов, ангиотензинового АТ₁-рецептора и α₂-адренорецептора. Риск прогрессирования возрастает (p=0,029) при увеличении активности АТ₁-рецептора – ОШ = 4,9 (95% ДИ 1,2-20) на каждую единицу прироста данного показателя, при повышении активности P2Y-рецепторов – ОШ = 1,6 (95% ДИ 1,1-2,3) на каждую единицу прироста данного показателя. Снижение (p = 0,013) риска развития заболевания отмечается при увеличении активности α₂-адренорецептора – ОШ = 1,2 (95% ДИ 1,0-1,4) на каждую единицу прироста данного показателя. Разработанная трехфакторная модель логистической регрессии (площадь под кривой операционных характеристик модели – AUC = 0,99; 95%; ДИ 0,96 - 1,00) позволяет прогнозировать риск прогрессирования заболевания в 95,2% (чувствительность теста 95% ДИ 83,8%-99,4%) случаев ХИМ, при этом специфичность теста составляет 100% (95% ДИ 94,2% -100%).

Практические рекомендации

1. Для уточнения стадии и степени тяжести ХИМ, помимо традиционных клинических и инструментальных методов обследования, целесообразно определять функциональную активность рецепторов тромбоцитов, что позволяет выявлять ведущие факторы риска прогрессирования заболевания, оценивать эффективность антиагрегантной терапии; прогнозировать возможность модуляции функций нейронов, глии и эндотелия сосудов посредством пуринов (АТФ, АДФ, аденозин), ионов Ca²⁺, факторов роста (PDGF, VEGF), цитокинов (ИЛ-1β и ФНОα), матриксных металлопротеиназ (ММП), секретируемых активированными тромбоцитами и лейкоцитами, а так же корректировать медикаментозную терапию с учетом значимости воздействия патогенетических факторов ХИМ.

2. Рекомендованы новые критерии диагностики прогрессирования ХИМ, основанные на определении функциональной активности и взаимодействия рецепторов тромбоцитов, которые могут быть использованы в дифференциальной диагностике ЦВЗ.

3. В результате анализа факторов риска ХИМ выявлено три значимых признака: активность ангиотензинового АТ₁-рецептора, пуриновых

P2Y- (P2Y₁ и P2Y₁₂) рецепторов и α₂-адренорецептора, на которых построена линейная модель. Использование данной модели позволяет проводить скрининг-прогноз прогрессирования ХИМ и выявлять пациентов с высоким риском прогрессирования заболевания.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых журналах ВАК Минобрнауки ДНР, РИНЦ РФ

1. Сохина В. С. Прогностическая модель ранней диагностики прогрессирования хронической ишемии мозга [Текст] / В. С. Сохина // Университетская клиника. – 2020. – № 1 (34). – С. 50–54. *(Диссертант выполнила работу над статьей самостоятельно).*
 2. Почему хроническая ишемия мозга прогрессирует и что является фактором риска развития сосудистой деменции? [Текст] / Э. Ф. Баринов, Е. А. Статинова, В. С. Сохина, Т. И. Фабер, О. Л. Максименко // Журнал психиатрии и медицинской психологии. – 2020. – № 2 (50). – С. 91–98. *(Диссертант провела анализ влияния факторов риска на чувствительность рецепторов клеток-мишеней, оформила статью).*
 3. Факторы риска и молекулярные механизмы их участия в патогенезе хронической ишемии мозга [Текст] / Э. Ф. Баринов, Е. А. Статинова, В. С. Сохина, Т. И. Фабер, О. Л. Максименко // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2020. – Т. 29, № 2. – С. 121–128. *(Диссертант выполнила исследования, оформила статью).*
 4. Разработка экспертной системы прогнозирования стадий хронической ишемии мозга [Текст] / Э. Ф. Баринов, Е. А. Статинова, В. С. Сохина, О. Л. Максименко, Т. И. Фабер // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2020. – Т. 5, № 1. – С. 13–26. *(Диссертант провела анализ неврологического статуса пациентов и реактивности тромбоцитов, подготовила статью к публикации).*
 5. Авсянкина, Е. В. Психоэмоциональные и когнитивные особенности больных ишемическим инсультом в зависимости от возраста [Текст] / Е. В. Авсянкина, Е. А. Статинова, В. С. Сохина // Университетская клиника. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 9–11. *(Диссертант провела исследование и анализ неврологического статуса пациентов и подготовила статью к публикации).*
- Публикации в рецензируемых журналах ВАК Минобрнауки РФ, РИНЦ РФ*
6. Молекулярные механизмы регуляции функциональной активности клеток крови: совершенствование таргетной противовоспалительной терапии деменции (лекция) [Текст] / Э. Баринов, Х. Григорян, Т. Фабер, В. Сохина, А. Перенесенко // Врач. – 2019. – Т. 30, № 11. – С. 15–22. *(Диссертант проанализировала роль пуриnergических P2Y рецепторов в патогенезе нейровоспаления).*
 7. Баринов, Э. Ф. Артериальная гипертензия: возможные патогенетические механизмы хронической ишемии мозга [Текст] / Э. Ф. Баринов, Т. И. Фабер, В. С. Сохина // Врач. – 2020. – Т. 31, № 9. – С. 5–10. *(Диссертант провела анализ реактивности тромбоцитов, подготовила статью к публикации).*

Публикации в рецензируемых изданиях, сборниках и материалах конференций РФ

8. Хроническая ишемия мозга: диагностическая значимость изменений сосудистого русла сетчатки [Текст] / Э. Ф. Баринов, Е. А. Стафинова, В. С. Сохина, Т. И. Фабер // Кардионеврология: материалы III Национального конгресса, Москва, 6–7 декабря 2018 г. – Москва, 2018. – С. 23. *(Диссертант провела информационный поиск, формулировала выводы).*
9. Реутова, Н. О. Характеристика химической кинетики активации тромбоцитов по данным агрегатометрии [Текст] / Н. О. Реутова, Т. И. Фабер, В. С. Сохина // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: тезисы XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. – Санкт-Петербург : Изд-во СПбГУ, 2018. – Т. 21. – С. 355. *(Диссертант выполнила анализ данных, подготовила тезисы в печать).*
10. Пуриновые рецепторы клеток крови как таргетные мишени для разработки новых методов противовоспалительной терапии при хронической ишемии мозга [Текст] / Э. Ф. Баринов, Т. И. Фабер, В. С. Сохина, Н. А. Черкасова // Непрерывное медицинское образование и наука. – 2019. – Т. 13, № 1 (Приложение). Острые нарушения кровообращения головного мозга. Открытые и эндоваскулярные операции в профилактике и лечении ОНМК: Уральский окружной научно-практический Форум с международным участием, г. Челябинск, 23 – 24 апреля 2019 г.). – С. 8–9. *(Диссертант выполнила информационный поиск, анализ результатов исследования).*
11. Проблема когнитивных нарушений, которые обусловлены хронической ишемией головного мозга [Текст] / В. В. Масенко, В. С. Сохина, Е. В. Авсянкина, А. М. Скороход // Давиденковские чтения-2020: сборник материалов конференции с международным участием. – Санкт-Петербург, 2020. – С. 277–278. *(Диссертант выполнила информационный поиск, написала все разделы тезисов).*
12. Сохина, В. С. Роль дисциркуляторно-дисметаболической энцефалопатии в формировании когнитивных расстройств при сахарном диабете 2 типа [Текст] / В. С. Сохина, В. В. Масенко // Медицинская весна – 2020: сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции, г. Москва, 7-8 февраля 2020 г., Сеченовский Университет. – Москва, 2020. – С.150–151. *(Диссертант провела обзор литературы, подготовила тезисы к печати).*
Публикации в зарубежных рецензируемых изданиях, сборниках и материалах конференций
13. Анализ функции гипореактивных тромбоцитов при медикаментозном лечении пациентов с хронической ишемией мозга [Текст] / Э. Ф. Баринов, Т. И. Фабер, В. С. Сохина, Н. О. Реутова // XVII-е чтения В. В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции, 24-25 мая 2018 г. – Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2018. – С. 46–49. *(Диссертант выполнила анализ данных, написала результаты исследования).*
14. Прогнозирование риска прогрессирования дисциркуляторной энцефалопатии prediction risk of progression circulatory encephalopathy

- [Текст] / Э. Ф. Баринов, В. С. Сохина, Т. И. Фабер, О. Л. Максименко, В. М. Брюханов // Патологічна фізіологія – охорони здоров'я України: VIII Національний конгрес патологічних фізіологів України, присвячений 120-річчю Одеської патологічної школи: матеріали конгресу – Одеса, 2020. – Т. 1. – С. 43–46. *(Дисертант виконала аналіз первинного матеріала, підготувала тези в печать).*
15. Кластер функциональной активности рецепторов тромбоцитов при дисциркуляторной энцефалопатии у больных с сахарным диабетом 2 типа. / Э. Ф. Баринов, Е. А. Стафинова, В. С. Сохина, Т. И. Фабер // Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей I Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, 18 жовтня 2018 р. – Харків: Вид-во НФаУ, 2018. – С. 39–40. *(Дисертант виконала аналіз первинного матеріала, написання результатів дослідження).*
- Публикации в рецензируемых изданиях, сборниках и материалах конференций ДНР*
16. Ишемический инсульт и его нейропсихологические особенности у больных пожилого и старческого возраста [Текст] / Е. В. Авсянкина, Е. А. Стафинова, А. Г. Джоджуа, В. С. Сохина // Университетская клиника. – 2017. – Приложение. – С. 9–10.
17. Депрессия и цереброваскулярные заболевания [Текст] / О. Л. Максименко, Ю. И. Коценко, Е. В. Авсянкина, В. С. Сохина // Университетская клиника. – 2019. – Приложение (Наука побеждать... болезнь: материалы III Международного медицинского форума Донбасса, 14-15 ноября 2019 г.). – С. 270–271.
18. Неврологические осложнения больных с хронической ишемией мозга [Текст] / В. В. Масенко, В. С. Сохина, Е. В. Авсянкина, А. М. Скороход // Университетская клиника. – 2019. – Приложение (Наука побеждать... болезнь: материалы III Международного медицинского форума Донбасса, 14-15 ноября 2019 г.). – С. 326.
- Публикации в не рецензируемых изданиях, сборниках и материалах конференций ДНР*
19. Нейропсихологические особенности больных ишемическим инсультом в зависимости от возраста [Текст] / Е. В. Авсянкина, Т. С. Зверева, О. Е. Гладько, В. С. Сохина // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины: материалы 77-го международного медицинского конгресса молодых учёных, г. Донецк, 14-15 мая 2015 г. – Донецк, 2015. – С. 61.
20. Федько, В. Г. Выраженность постинсультной депрессии и когнитивных нарушений в зависимости от локализации ишемических очагов [Текст] / В. Г. Федько, В. С. Сохина, Е. В. Авсянкина // Наука побеждать... болезнь: материалы Международного медицинского форума Донбасса, 14-15 ноября 2018 г. – Донецк, 2018. – С. 213–214.
21. Федько, В. Г. Процесс нейропластичности и эффективность нейропротективной терапии в остром периоде ишемического инсульта на примере цитиколина [Текст] / В. Г. Федько, В. С. Сохина, П. С. Синькур // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины:

материалы 80-го международного медицинского конгресса молодых ученых, 17-18 мая 2018 г. – Донецк, 2018. – С. 261–262.

АННОТАЦИЯ

В.С. Сохина. Тромбоцитарные маркеры прогрессирования хронической ишемии мозга.– Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни. – Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения ДНР, Донецк, 2020.

Диссертационная работа посвящена решению актуальной научной задачи в области неврологии – усовершенствовать диагностику прогрессирования хронической ишемии мозга (ХИМ) на основе анализа активности рецепторов тромбоцитов (Тц). В работе проведен анализ клиничко-неврологических, инструментальных и лабораторных данных 107 пациентов с разными стадиями ХИМ. Исследование функционального состояния Тц проводили *in vitro* на момент госпитализации пациентов. У пациентов с I-II стадиями ХИМ выявлялась гиперреактивность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора, что отражает участие симпато-адреналовой и ренин-ангиотензиновой систем в нарушении мозгового кровообращения. Фактором прогрессии от I к II стадии ХИМ является гипоксия/ишемия мозга, что проявляется критическим повышением активности пуриновых Р2У-рецепторов. Переход от II к III стадии ХИМ связан с усиливающейся дисрегуляцией пуринергической системы мозга, увеличением тяжести нейровоспаления и нарастающей деградацией компонентов стенки сосудов, в результате чего достигается критический порог активности Р2У-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Влияние СД проявляется потенцированием реактивности рецепторов, которые участвуют в патогенезе ХИМ. Приведенные доказательства активации и взаимодействия Р2У-рецепторов, АТ₁-рецептора, α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора могут быть основанием для разработки новых методов таргетной терапии и профилактики прогрессирования ХИМ.

Ключевые слова: хроническая ишемия мозга, сахарный диабет 2-го типа, тромбоциты, функциональная активность рецепторов.

ABSTRACT

V.S. Sokhina. Platelet markers of chronic cerebral ischemia progression. - Manuscript.

Thesis for degree of candidate of medical sciences in specialty 14.01.11 – neurology. – State educational organization of higher professional education “M. Gorky Donetsk National Medical University” of the Ministry of Public Health of Donetsk People Republic, Donetsk. 2020.

The research is dedicated to solving an urgent scientific task in the field of neurology - to improve the diagnosis of progression of chronic cerebral ischemia

(CCI) based on the analysis of a platelet (P1) receptors' cluster activity. The clinical, instrumental and laboratory data of 107 patients were analyzed on different stages of CCI. The obtained data were processed using biostatistical methods using correlation and dispersive analysis. In patients with stages I-II of CCI, hyperresponsiveness of the α_2 -adrenergic receptor and AT₁ receptor were detected, which reflects the participation of CAS and RAS in the disturbance of cerebral circulation. A factor of progression of primary stages of CCI is brain hypoxia / ischemia, which is manifested by a critical increase of purine P2Y receptors' activity. The transition from the II to the III stage of CCI is associated with increasing dysregulation of the purinergic system of the brain, an increase in the severity of neuroinflammation and increasing degradation of the components of the basal membrane of the vascular wall, which results in a new critical threshold of activity of P2Y receptors, PAF receptor and GP VI- receptor. The effect of diabetes is manifested by potentiation of the reactivity of receptors involved in the pathogenesis of the severe stage of CCI. The evidence of activation and interaction of purine P2Y receptors, angiotensin AT₁ -receptor, α_2 -adrenergic receptor, PAF-receptor and GPVI -receptor may be the basis for the development of new methods of targeted therapy and prevention of the development of severe CCI stages.

Key words: chronic cerebral ischemia, diabetes mellitus, platelets, functional activity of receptors.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

α_2	–	альфа ₂ - адренорецептор к катехоламинам
Ан-2	–	ангиотензин 2
AT ₁	–	рецептор I типа к ангиотензину 2
АГ	–	артериальная гипертензия
АДФ	–	аденозиндифосфат
АТц	–	агрегация тромбоцитов
ВКМ	–	внеклеточный матрикс мозга
ГЭБ	–	гемато-энцефалический барьер
ДИ	–	доверительный интервал
ОШ	–	отношение шансов
P2	–	пуриновые рецепторы
РАС	–	ренин-ангиотензиновая система
САС	–	симпато-адреналовая система
Тц	–	тромбоциты
ФАТ	–	фактор активации тромбоцитов
ХИМ	–	хроническая ишемия мозга
ХИМСД	–	хроническая ишемия мозга ассоциированная с СД
GP VI	–	гликопротеиновый рецептор к коллагену IV типа