

2. Секержинская, Е. Л. Факторы риска развития первично-множественных злокачественных образований / Е. Л. Секержинская, А. Ф. Лазарев, В. Д. Петрова // Российский биотерапевтический журнал. — 2009. — № 2. — С. 85–91.
3. Наумова, Н. В. Первично-множественные злокачественные опухоли: трудности диагностики в практике врача-терапевта / Н. В. Наумова, Л. Н. Романчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2015. — № 3. — С. 3–6.
4. Шунько, Е. Л. Современное состояние проблемы развития первично-множественных злокачественных опухолей / Е. Л. Шунько, А. В. Ваденин, Н. А. Шаназаров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2015. — № 10. — С. 503–506.
5. Изучение частоты и особенности развития первично-множественных злокачественных новообразований в Беларуси / И. В. Залуцкий [и др.] // Достижения медицинской науки Беларуси: сб. науч. ст. — Минск: ГУ РНМБ, 2009. — Вып. XIV. — С. 16–17.
6. Антипова, С. И. Гендерные проблемы онкологии в Беларуси / С. И. Антипова, В. В. Антипов, Н. Г. Шебенко // Медицинские новости. — 2013. — № 3. — С. 1–22.
7. Первично-множественные злокачественные опухоли, одной из которых является лимфома Ходжкина, в Республике Беларусь / И. В. Веялкин [и др.] // Онкологический журнал. — 2013. — Т. 7, № 2 (26). — С. 72–80.
8. Multiple neoplasms in patient with uveal melanoma / J. M. Caminal [et al.] // Archivos de la sociedad española de oftalmología. — 2007. — № 82. — P. 535–540.
9. Роль современных методов исследования в ранней диагностике метастазов у пациентов с увеальной меланомой / К. В. Авакян [и др.] // Российский электронный журнал радиологии. — 2016. — № 6 (4). — С. 8–18.
10. Перспективы иммунотерапии метастатической увеальной меланомы / В. В. Назарова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. — 2016. — № 39. — С. 68–72.
11. Современные тенденции в терапии увеальной меланомы: обзор проблемы / В. В. Назарова [и др.] // Журнал «Злокачественные опухоли». — 2011. — № 4(11). — С. 54–62.
12. Саакян, С. В. Анализ метастазирования и выживаемости больных увеальной меланомой / С. В. Саакян, Т. В. Ширина // Опухоли головы и шеи. — 2012. — № 2. — С. 53–56.

Поступила 20.10.2017

## НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

УДК 616.831-005:544.354-128

### СОСТОЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ СИНТЕЗА НИТРИТ-НИТРАТ-ИОНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕХОДЯЩИМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Н. В. Галиновская<sup>1</sup>, М. Н. Стародубцева<sup>1</sup>, М. Г. Шитикова<sup>3</sup>, О. А. Иванцов<sup>2</sup>,  
О. В. Осипкина<sup>1</sup>, А. Н. Цуканов<sup>3</sup>, Д. Р. Петренев<sup>1</sup>, Е. А. Липская<sup>1</sup>, Н. М. Голубых<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет,

<sup>2</sup>Гомельский областной клинический госпиталь инвалидов Отечественной войны,

<sup>3</sup>Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

**Цель:** определить клиническую значимость изменения концентрации нитрит-нитрат-ионов — NO<sub>x</sub> в сыворотке крови на 1–2-е сутки у пациентов с преходящими нарушениями мозгового кровообращения и вероятность возникновения инфаркта мозга в течение года по результатам измерения NO<sub>x</sub>.

**Материалы и методы.** Было обследовано 58 пациентов с транзиторной ишемической атакой, 35 – с церебральным гипертоническим кризом, 16 волонтеров. Пациентам на 1–2-е и 10–12-е сутки после преходящего нарушения мозгового кровообращения, а волонтерам — однократно определяли в сыворотке крови уровень NO<sub>x</sub> и активность супероксиддисмутазы, проводили фенотипирование лейкоцитов периферической крови. Возникновение повторных ишемических событий выявляли методом телефонного интервью за период в 3 месяца и 1 год.

**Результаты.** По уровню концентрации NO<sub>x</sub> в сыворотке крови на 1–2-е сутки все пациенты с преходящим нарушением мозгового кровообращения были разделены на две группы: первая – с подпороговым уровнем NO<sub>x</sub> (<33 Мкм), сохраняющимся после курса базисной терапии; вторая — с надпороговым (>33 Мкм), снижавшимся в процессе лечения. В обеих группах активность супероксиддисмутазы имела вдвое меньшие, чем в контроле значения (p < 0,001) и не корригировалась в первую декаду. Иммунофенотипирование лейкоцитов периферической крови выявило в обеих группах признаки напряженности воспалительного ответа со снижением наивных фракций и большую степень остроты воспаления во второй. Различная концентрация NO<sub>x</sub> у пациентов с преходящим нарушением мозгового кровообращения на 1–2-е сутки с прогнозом повторных ишемических событий связи не имела.

**Заключение.** Разделение группы пациентов с преходящим нарушением мозгового кровообращения по концентрации NO<sub>x</sub>, определяемой непосредственно после возникновения транзиторной ишемии головного мозга, позволило выявить разнородность изучаемой когорты по характеру воспалительных изменений, не влияющих на прогноз повторной ишемии.

**Ключевые слова:** преходящие нарушения мозгового кровообращения, транзиторная ишемическая атака, церебральный гипертонический криз, нитрит-нитрат-ионы, прогноз инфаркта мозга.

## THE STATE OF THE PARAMETERS OF NITRITE/NITRATE ION SYNTHESIS IN PATIENTS WITH PASSING INFRINGEMENTS OF BRAIN BLOOD CIRCULATION

*N. V. Galinovskaya<sup>1</sup>, M. N. Starodubtseva<sup>1</sup>, M. G. Shitikova<sup>3</sup>, O. A. Ivantsov<sup>2</sup>,  
V. V. Osipkina<sup>1</sup>, A. N. Tsukanov<sup>3</sup>, D. R. Petreniov<sup>1</sup>, E. A. Lipskaya<sup>1</sup>, N. M. Golubykh<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Gomel State Medical University,

<sup>2</sup>Gomel Regional Clinical Hospital for Disabled Great Patriotic War Veterans,

<sup>3</sup>Republic Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

**Objective:** to determine the clinical value of the change of nitrite/nitrate ions (NO<sub>x</sub>) concentration in the blood serum on the first or second day in patients with passing infringements of brain blood circulation (PIBBC) and the probability of recurrent stroke during the year after PIBBC according to the NO<sub>x</sub> measurement.

**Methods.** We examined 58 patients with a transient ischemic attack, 35 patients with cerebral hypertonic crisis and 16 volunteers. We compared the NO<sub>x</sub> level in the blood serum, the activity of superoxidodismutase (SOD) and performed phenotyping of the peripheral blood leukocytes in the patients on day 1 or 2 and day 10 or 12 after PIBBC and once in the volunteer group. The occurrence of recurrent ischemic events was identified by means of a telephone interview for a period of 3 months and 1 year.

**Results.** According to the NO<sub>x</sub> concentration in the blood serum on first or second day, all the patients with PIBBC were divided into two groups: the first one with the NO<sub>x</sub> subthreshold level (<33 Mkm) being stable after the course of basic therapy; the second one — with the NO<sub>x</sub> above-threshold concentration (> 33 Mkm) decreasing during the treatment. The activity of SOD in both the groups was twice as little as that in the control group (p<0.001) and was not corrected in the first decade. Immunophenotyping of the peripheral blood leukocytes revealed signs of an evident inflammatory response with a decrease in naive fractions in both the groups and a greater degree of acute inflammation in the second group. There was no connection between the NO<sub>x</sub> concentration on the first or second day from the onset and the prognosis of repeated ischemic events in the patients with PIBBC.

**Conclusion.** The distribution of the PIBBC groups according to the NO<sub>x</sub> concentration determined immediately after the onset of transient cerebral ischemia made it possible to reveal the heterogeneity of the studied cohort by the nature of the inflammatory changes which do not influence the prognosis of repeated ischemia.

**Key words:** passing infringements of brain blood circulation, transient ischemic attack, cerebral hypertonic crisis, nitrite/nitrate ions, stroke prognosis.

### Введение

Увеличение смертности от цереброваскулярной патологии в последние годы в социально развитых странах обусловлено различными причинами, среди которых снижение инфекционной нагрузки, облегчение доступа к неограниченному потреблению пищевых продуктов и снижение физической активности [1–4]. При этом более 80 % инсультов составляет инфаркт мозга (ИМ) [3, 4]. Профилактика ИМ в настоящее время активно развивается [3–6]. Однако, по мнению авторов настоящей статьи, основанному на результатах предыдущих исследований, эффективная профилактика мозговой катастрофы невозможна без точного прогноза, основанного на объективных показателях [7–10].

Для поиска объективных критериев, позволяющих прогнозировать ИМ в ближайшем будущем, нами была выбрана группа пациентов, перенесших преходящее нарушение мозгового кровообращения (ПНМК): остро возникающий очаговый или смешанный неврологический дефицит или ретинальная ишемия сосудистого генеза, регрессирующие в течение 24 ч, которые, согласно принятой в Республике Беларусь классификации, включают транзиторную ишемическую атаку (ТИА) и церебральный гипертонический криз (ЦГК) [6, 11,

12]. В этой группе риск ИМ в краткосрочном прогнозе составляет 4–8 %, в долгосрочной перспективе эта цифра увеличивается до 30 % [6, 10, 11, 12]. Клинически оценить вышеописанный риск возможно с помощью модифицированной Калифорнийской прогностической шкалы (ABCD<sup>2</sup>) [13]. С нашей точки зрения, при несомненной простоте использования ABCD<sup>2</sup> и оптимизации профилактики ИМ с ее применением в группе пациентов с ПНМК имеется ряд недостатков, в том числе невозможность быстрой оценки эффективности профилактических мероприятий.

В связи с этим ранее нами было предложено использование в качестве прогностического критерия уровня нитрит-нитрат-ионов — NO<sub>x</sub> [14], представляющего собой результирующую взаимодействия избытка монооксида азота — NO и супероксиданиона в условиях снижения активности супероксиддисмутазы (СОД) [8, 14]. Концентрация NO<sub>x</sub> зависит от направления и интенсивности протекания физиологических и патологических процессов, возраста [14]. Повышению уровня NO<sub>x</sub> описано при цереброваскулярных заболеваниях и оценено неоднозначно [8, 14].

Нами ранее было выявлено снижение антиоксидантного статуса крови у всех лиц с любы-

ми формами ПНМК и ИМ и различие уровня  $\text{NO}_x$  у лиц с ПНМК и лакунарным инсультом (ЛИ) [15]. Отсутствие динамики медиан  $\text{NO}_x$  и СОД в каждой группе при разнонаправленных изменениях показателей системного воспаления у отдельных лиц подтолкнули нас к проведению дополнительного дисперсионного анализа для выявления внутренней структуры изучаемых параметров. Дополнительным обоснованием для проведения такой процедуры послужили также не жесткие критерии включения пациентов в группы ТИА и ЦГК [8, 12]. Диагностические признаки ЦГК определены неоднозначно, в МКБ-10 такая нозологическая единица отсутствует, однако она предусмотрена клинической классификацией сосудистых заболеваний головного мозга, используемой в Республике Беларусь [8, 12]. В связи с наличием при ЦГК нестойкой очаговой неврологической симптоматики предполагается отнесение этой формы к подрубрике «G 45.9 Транзиторная церебральная ишемическая атака неуточненная (спазм церебральной артерии, транзиторная церебральная ишемия)» [8, 12].

В норме образуется небольшое количество  $\text{NO}_x$ . Изменение концентрации  $\text{NO}_x$  характеризует ответную реакцию организма на стрессовое воздействие и в меньшей степени — на локальный воспалительный процесс. Повышение содержания  $\text{NO}_x$  активизирует процесс апоптоза кардиомиоцитов, эндотелиоцитов, необратимо ингибирует окислительное фосфорилирование дыхательной цепи митохондрий, способствует экспрессии молекул адгезии, активации лейкоцитов, эскалации воспаления. Рост  $\text{NO}_x$  по механизму обратной связи снижает продукцию  $\text{NO}$ , угнетая  $\text{NO}$ -синтазы и переключая их на синтез супероксиданиона [14]. Вероятно, при новообразованиях этот механизм имеет протективное значение и направлен на элиминацию быстро делящихся недифференцированных клеток. При повторении выброса  $\text{NO}_x$  в умеренных концентрациях формируется тахифилаксия, проводимость аденозинтрифосфат-зависимых калиевых каналов снижается [14]. В этих условиях  $\text{NO}_x$  разнонаправленно изменяет агрегацию тромбоцитов, может участвовать в пре- и посткондиционировании, предотвращая некроз. Изменение концентрации  $\text{NO}_x$  способствует формированию толерантности к нитратам [14].

В работе Н. И. Нечипуренко и соавт. (2009 г.) была исследована концентрация  $\text{NO}_x$  у пациентов с хронической ишемией головного мозга. Было выявлено повышение метаболитов  $\text{NO}$  у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией при применении препарата мексидол, что расценено как положительная реакция [16]. Полученные нами данные [10] по большому уровню  $\text{NO}_x$  в группе лиц с ПНМК при срав-

нении с когортой ЛИ могут быть объяснимы протективной ролью этого повышения.

Уровень  $\text{NO}_x$  при поступлении в изучаемых группах от контроля не отличался, однако был более низким у пациентов с ЛИ при сравнении с группами ПНМК: ЦГК ( $p = 0,007$ ) и ТИА ( $p = 0,028$ ). После курса терапии различий между группами пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения и контролем в концентрации  $\text{NO}_x$  выявлено не было [10]. Активность СОД сыворотки крови была снижена у пациентов с любой формой ишемии головного мозга и к 10–12-м суткам не восстанавливалась [10]. Отличия от контроля сохранялись на 10–12-й день пребывания в стационаре с достоверно более низкими цифрами состояния статуса антиоксидантной защиты: БИ ( $p = 0,002$ ), ЛИ ( $p < 0,001$ ), ТИА ( $p = 0,002$ ) и ЦГК ( $p = 0,005$ ). В процессе проведения терапии было выявлено незначительное повышение уровня СОД в группе ЦГК ( $p = 0,052$ ). Распределение концентрации  $\text{NO}_x$  в группах пациентов с ишемией головного мозга имело противоположную направленность активности СОД в тех же группах. По истечении 10-дневного периода в связи с динамикой вышеуказанных параметров группа была разделена на четыре подгруппы: с повышением, сочетающимся с неблагоприятным прогнозом, и снижением  $\text{NO}_x$  [10].

Однако клиническая значимость разнотенной концентрации  $\text{NO}_x$  и СОД в группе пациентов с ПНМК в 1–2-е сутки от начала заболевания ранее не рассматривалась, несмотря на максимальную значимость определения прогноза ИМ у данной категории пациентов.

#### **Цель исследования**

Определить клиническую значимость концентрации  $\text{NO}_x$  в сыворотке крови на 1–2-е сутки у пациентов с ПНМК и вероятность возникновения ИМ в течение года по результатам измерения  $\text{NO}_x$ .

#### **Материал и методы**

Обследованы пациенты I неврологического отделения учреждения «Гомельский областной клинический госпиталь инвалидов Отечественной войны»: 58 пациентов с ТИА (средний возраст 68 (57–77) лет; 33 женщины и 25 мужчин) и 35 пациентов с ЦГК (58 (54–66) лет; 24 женщины и 11 мужчин). Контрольную группу составили 16 волонтеров старше 45 лет, (52 (50–55) года; 8 женщин и 8 мужчин). Все включенные в группы проходили клиническое обследование согласно протоколам диагностики и лечения неврологических заболеваний Республики Беларусь. При проведении исследования у пациентов было получено информированное согласие. Исследование одобрено Советом по этике УО «Гомельский государ-

ственный медицинский университет» и поддержано грантом Белорусского Фонда фундаментальных исследований (М-13081).

В клинической картине пациентов с ТИА преобладали жалобы на слабость в конечностях (53,4 %, 31 чел.), нарушение речи (43,1 %, 2 чел.), головокружение (43 %, 25 чел.), головную боль (29,3 %, 17 чел.). При поступлении объективно выявлены: гемипарез (50 %, 29 чел.), сглаженность носогубной складки (70,7 %, 41 чел.), односторонний симптом Бабинского (63,8 %, 37 чел.), нарушение речи (39,7 %, 23 чел.), гемигипестезия (29,3 %, 17 чел.), стато-кинети-ческие нарушения (65,5 %, 38 чел.). 90-днев-

ный риск ИМ по шкале ABCD<sup>2</sup> составил 5 (4–6) баллов, что соответствует среднему риску. Лица с ЦГК предъявляли жалобы на головную боль и головокружение (62,8 %, 22 чел.), тошноту (54,3 %, 19 чел.), слабость в конечностях (20 %, 7 чел.). Объективно было выявлено: легкий гемипарез (8,6 %, 3 чел.), сглаженность носогубной складки (34,3 %, 12 чел.), односторонний симптом Бабинского (25,7 %, 9 чел.), стато-кинети-ческие нарушения (74,3 %, 26 чел.). Сопутствующая патология пациентов с ПНМК представлена в таблице 1. У лиц контрольной группы на момент обследования признаков соматической патологии выявлено не было.

Таблица 1 — Сопутствующая патология у пациентов с ПНМК

Патология	Клиническая форма (n, чел), %	
	ТИА, n = 58	ЦГК, n = 35
ИМ или ТИА в анамнезе	27,6 % (16)	20 % (7)
Артериальная гипертензия I–II степени	38 % (22)	31,4 % (11)
Артериальная гипертензия III степени	43,1 % (25)	65,7 % (23)
Ишемическая болезнь сердца	69 % (40)	48,6 % (17)
Инфаркт миокарда	10 % (2)	—
Сахарный диабет	—	5,7 % (2)
Мерцательная аритмия	19 % (11)	2,9 % (1)
Дисциркуляторная энцефалопатия	27,5 % (16)	14,3 % (5)
Патология щитовидной железы	5,2 % (3)	28,5 % (10)
Язвенная болезнь, хронический гастрит	1,7 % (1)	17 % (6)
Пиелонефрит, мочекаменная болезнь	5,2 % (3)	8,6 % (3)
Неврологические проявления остеохондроза	7 % (4)	8,6 % (3)

Лабораторные исследования проводились на базе научно-исследовательской лаборатории УО «Гомельский государственный медицинский университет». Забор венозной крови проводили утром натощак на 1–2-е сутки от ПНМК и у волонтеров. Для определения концентрации NO<sub>x</sub> в сыворотке крови использовали метод с одновременным восстановлением нитратов до нитритов и определением концентрации NO<sub>x</sub> с помощью модифицированного реактива Грисса по методике, описанной в источнике [17]. Оптическую плотность на длине волны 550 нм измеряли с помощью фотометра «Sunrise» (Tecan, Австрия). Оценку концентрации NO<sub>x</sub> проводили с использованием калибровочной кривой. Степень тяжести оксидантного стресса изучали путем определения антиоксидантной активности сыворотки венозной крови методом Т. В. Сироты по способности влиять на скорость реакции автоокисления адреналина гидрохлорида [18], которая оценивалась как активность СОД сыворотки крови в единицах активности. Рост процента ингибирования реакции расценивался как увеличение антиоксидантной активности СОД [18].

Параметры клеточного иммунитета у пациентов с ПНМК оценивались методом проточной цитофлуориметрии с использованием проточного цитофлуориметра BD «FACSCanto II» (Becton Dickinson and Company, США). Определение уровня иммуноглобулинов и компонентов комплемента иммунотурбидиметрическим методом осуществляли с использованием биохимического анализатора «Architect c8000» («Аввотт», США).

Определение уровня свободного тироксина (Т4), тиреотропного гормона (ТТГ), антител к тиреоидной пероксидазе (АТТРО) проводилось с помощью иммуноферментного анализатора «AxSYM» (США) и диагностических наборов фирмы «Abbott» (США). Образцы крови центрифугировали в течение 10 мин (центрифуга «Элекон», Российская Федерация, 1500 xg).

В полученных образцах плазмы крови методом иммуноферментного анализа на аппарате «Sunrise» («Tecan», Австрия) определяли концентрацию пяти показателей: 4 цитокинов (IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α) и высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ). Установ-

ление концентрации цитокинов и СРБ проводилось с помощью диагностических наборов «Вектор-Бест» (Российская Федерация).

Концентрацию общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХсЛПН), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХсЛПВП) и триглицеридов (ТГ) определялся на автоматическом биохимическом анализаторе «BS-300» в клинико-биохимической лаборатории учреждения «Гомельский областной клинический госпиталь инвалидов Отечественной войны».

Возникновение повторных ишемических событий в виде ПНМК, ИМ, инфаркта миокарда и смерти по причине сердечно-сосудистых заболеваний выявляли посредством телефонного интервью за период в 3 месяца и 1 год после перенесенного ПНМК.

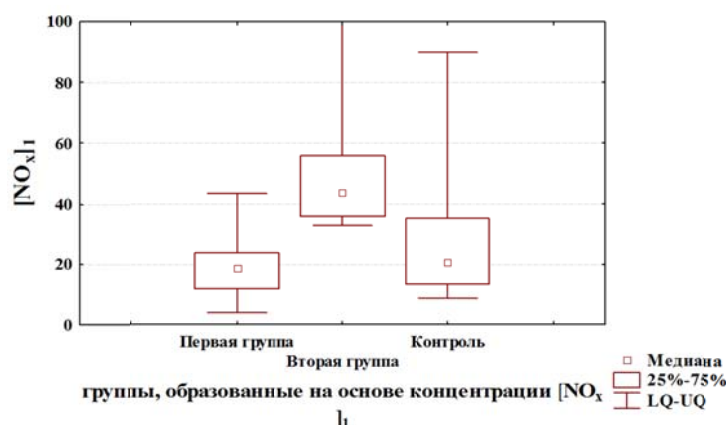
Статистический анализ данных проведен с помощью методов описательной и непараметрической статистики на базе программы «Statistica», 7.0. Данные, не соответствующие нормальному рас-

пределению, представлены в виде медианы и верхнего-нижнего квартилей. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами использован критерий Манна-Уитни, а качественные признаки оценены с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Для проверки гипотезы о различии зависимых выборок применяли тест Вилкоксона [19].

**Результаты и обсуждение**

По исходному значению показателя  $NO_x$  при поступлении в стационар группу пациентов с ПНМК разделили на лиц с уровнем  $NO_x$ , превышающим пороговые значения, и тех, у кого этот уровень не менялся (рисунок 1).

При проведении многомерного анализа с применением критерия Краскела-Уоллиса выявлены различия между группами в значении  $NO_{x1}$  ( $p < 0,0001$ ), активности  $СОД_1$  ( $p < 0,0001$ ) и  $СОД_2$  (на 10–12-е сутки от момента ПНМК) ( $p < 0,001$ ), ИЛ-6<sub>1</sub> ( $p < 0,001$ ) и ИЛ-6<sub>2</sub> ( $p = 0,0018$ ), СРБ<sub>1</sub> ( $p = 0,005$ ) и СРБ<sub>2</sub> ( $p = 0,022$ ) (таблица 2).



**Рисунок 1 — Изменение концентрации  $NO_x$  у пациентов с ПНМК при сравнительном анализе на 1-2-е сутки после перенесенного ПНМК**

**Таблица 2 — Концентрация  $NO_x$ , активность СОД и уровень параметров СВР у пациентов с ПНМК**

Показатель	Группа				
	$NO_x < 33$ мкМ/л, n = 75		$NO_x > 33$ мкМ/л, n = 25		контроль, n = 18
	1-е сутки	10–12-е сутки	1-е сутки	10–12-е сутки	
$NO_{x1}$ , мкМ/л	19,7 <sup>x</sup> 12,5;23,8	21,5 <sup>Δ</sup> 16;36,5	43,5* 35,8;54,7	24,4 <sup>Δ</sup> 18,4;33,1	19,2 13,2;30,4
СОД <sub>1</sub> , Ед	36,6* 16,4;47,2	34,2* 20,7;44,9	28,1* 10;39	34* 30,9;43,6	75,6 39,3;95
ИЛ-6 <sub>1</sub> , пг/мл	1,05* 0,16;3,25	0,89* 0,09;3,06	1,38* 0,81;3,41	2,13* 0,45;6,05	0 0,0;49
ИЛ-8 <sub>1</sub> , пг/мл	5,44 3,63;7,1	6,26* 4,27;8,14	5,75 4,29;10,9	6,26 4,3;10,05	5,12 2,75;6,68
СРБ <sub>1</sub> , г/л	12,3* 6,4;48	14* 8,5;35,6	12* 6,39;36	66,6* 8;124	4,84 3,23;8,29

*Примечание.* 1) \* —  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой; 2) <sup>x</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении между группами; 3) <sup>Δ</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении в процессе терапии

Как следует из данных таблицы 2, в первой образованной группе концентрация  $NO_{x1}$

не отличалась от контрольных данных при поступлении и повышалась в процессе проведе-

ния лечебных мероприятий ( $p = 0,001$ ). На 10–12-е сутки этот показатель по-прежнему не превышал контрольные значения. Во второй группе уровень  $\text{NO}_{x1}$  был существенно выше пороговых значений ( $p < 0,001$ ) и значений первой группы ( $p < 0,001$ ) и снижался в процессе лечения, достигая подпороговых значений в медиане к 10–12-м суткам ( $p = 0,0013$ ). При этом активность СОД в обеих группах имела вдвое меньшие значения, чем в контроле ( $p < 0,001$ ), не корригировалась в процессе лечения и отражала, по нашему мнению, дефицит ферментативного звена антиоксидантной системы.

Та же картина имела место для ИЛ-6 и СРБ, которые были повышены при поступлении (первая группа: ИЛ-6<sub>1</sub> ( $p = 0,002$ ) и СРБ<sub>1</sub> ( $p = 0,0012$ ), вторая группа: ИЛ-6<sub>1</sub> ( $p < 0,001$ ) и СРБ<sub>1</sub> ( $p < 0,001$ ), на 10–12 сутки (первая группа: ИЛ-6<sub>2</sub> ( $p = 0,002$ ) и СРБ<sub>2</sub> ( $p = 0,001$ ), вторая группа: ИЛ-6<sub>2</sub> ( $p < 0,001$ ) и СРБ<sub>2</sub> ( $p = 0,006$ ). Между собой группы по параметрам, характеризующим степень выраженности системной воспалительной реакции, не различались и достоверных изменений при проведении базисной терапии не имели.

Различий в клинической картине у пациентов данных групп выявлено не было.

Уровень  $T_4$  в обеих группах пациентов с ПНМК был больше контрольных значений (12,6 (12,1; 14,3) пмоль/л; 15,9 (14,3; 20,2) пмоль/л в первой группе ( $p < 0,001$ ) и 15,9 (13,7; 19,6) пмоль/л — во второй ( $p = 0,03$ ), без различия между группами, что указывало на активацию гормонального ответа при возникновении острого нарушения мозгового кровообращения.

Из показателей рутинных анализов крови обращала на себя внимание большая степень

выраженности воспалительных изменений во второй группе: уровней лейкоцитов (LEY) — 7,1 (5,9; 8,8)  $\times 10^9/\text{л}$  в первой и 8,5 (6,7; 10,3)  $\times 10^9/\text{л}$  — во второй группе,  $p = 0,022$ ; палочко-ядерных LEY — 0,36 (0,28; 0,49)  $\times 10^9/\text{л}$  и 0,48 (0,37; 0,69)  $\times 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p = 0,022$ ; сегментоядерных LEY — 4,26 (3,4; 5,5)  $\times 10^9/\text{л}$  и 5,2 (4,2; 6)  $\times 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p = 0,049$ , что указывало на больший воспалительный сдвиг во второй когорте. Уровень глюкозы крови при поступлении был также более значим для пациентов с высоким уровнем  $\text{NO}_{x1}$ : 5 (5,5; 5,8) ммоль/л и 5,8 (4,8; 7,1) ммоль/л соответственно,  $p = 0,022$ .

Из биохимических показателей крови в первой группе был выявлен более высокий уровень общего билирубина при сравнении с контролем (13 (12; 17) г/л и 12,4 (12; 12,8) г/л — в контроле,  $p = 0,027$ ). Во второй группе более высокие значения были выявлены для показателей креатинина при поступлении: 86 (79; 99) ммоль/л и 78 (69; 84) ммоль/л — в контроле,  $p = 0,022$  и отличали вторую группу от первой: 72 (68; 81) ммоль/л,  $p < 0,001$ . Между собой группы различались также уровнем ОХ (5,5 (7,4; 6,3) ммоль/л в первой группе и 6,4 (5,2; 7,5) ммоль/л — во второй,  $p = 0,032$ ), что объяснялось более высоким при сравнении с контролем (5,2 (4,9; 6) ммоль/л) значением ОХ сыворотки крови во второй группе. Между тем по спектру сопутствующей патологии образованные по концентрации  $\text{NO}_{x1}$  когорты не различались.

В образованных группах имели место также некоторые различия в иммунологическом статусе (таблица 3).

Таблица 3 — Основные показатели иммунного статуса у пациентов с ПНМК в зависимости от уровня  $\text{NO}_{x1}$

Показатель	Группы $\text{NO}_{x1}$		
	1-я группа, n = 8 Med (LQ–UQ)	2-я группа, n = 5 Med (LQ–UQ)	контроль Med (LQ–UQ)
LYM CD3-CD4+, %	0,35 (0,15; 0,8)*	0,5 (0,2; 0,6)	0,1 (0; 0,2)
LYM CTL CD16+, %	18,2 (8,8; 20)*	22,9 (9,4; 24,4)*	29,6 (26,6; 34,7)
MON CD16+, abs $\times 10^9/\text{л}$	0,12 (0,09; 0,3)*	0,14 (0,08; 0,15)	0,06 (0,02; 0,08)
LYM CD3+CD4+CD38+–TH, %	28,4 (21; 33,2)*	35,8 (31,9; 46,4)	41,8 (34,5; 50,2)
MON CD4+CD38-, %	10,2 (7,4; 91)*	5,5 (3,4; 48,5)*	97,5 (93,2; 97,5)
MON CD4- CD38+, %	8,6 (5,5; 83,9)*	10,4 (7; 48,4)*	89,4 (85; 5,90)
LYM CD3+CD4+CD45RA+–TH, %	13,4 (10,2; 19,3)*, x	37,9 (22; 388,6)	26,8 (18,9; 33,6)
LYM CD3+CD4+CD45RO+–TH, %	64,8 (57; 73,7)*, x	44,2 (37; 45,3)	47,9 (45,4; 54,6)
LYM CD4+RA+–CD3+, %	11,3 (6,2; 17,1)*, x	24,7 (24,1; 38,7)	25,6 (18,9; 31,8)
LYM CD4+RO+–CD3+, %	49,3 (37,3; 52,9) <sup>x</sup>	24,3 (21,9; 37,3)	37,2 (34,2; 39)
LYM CD71+, %	1,95 (1,55; 3,45)*	1 (1; 1,4)	1,0 (0,7; 1,5)
MON CD18+CD11C+, %	98,3 (97,6; 98,6)	98,2 (97,9; 98,9)	96,7 (95,6; 97,9)
MON CD11C+, %	100 (99,8; 100) <sup>x</sup>	98,9 (98,9; 99,9)	97,3 (96,6; 98,4)

Примечание. 1) \* —  $p < 0,05$  по отношению к контролю; 2) <sup>x</sup> —  $p < 0,05$  при сравнении между группами

В первой группе при сравнении с контролем был выявлен более низкий процент цитотоксиче-

ских лимфоцитов (LYM) CD 16+ ( $p = 0,013$ ). В контрольной группе у пациентов старше 45 лет процент

этой субпопуляции был выше указанной в литературных источниках верхней границы интервала нормальных значений (12–25 %). Также в первой группе было выявлено снижение субпопуляции Т-хелперов с маркером ранней активации CD3 + CD4 + CD38+, гейтированных по Т-хелперам ( $p = 0,02$ ). LYM с поверхностным маркером CD38+ указывают на активный острый иммунный ответ. Снижение этой субпопуляции, гейтированной по LYM Т-хелперам менее, чем в контроле, указывает на нарушение острофазового ответа [20, 21].

В первой подгруппе наблюдалось существенное снижение субпопуляции наивных клеток Т-LYM CD45RA+, гейтированной по LYM Т-хелперам ( $p = 0,03$ ), и такое же значительное увеличение клеток памяти ( $p = 0,013$ ) [20, 21]. Аналогично выглядело распределение LYM CD4+RA+, гейтированных по LYM CD3+, % со снижением наивной субпопуляции ( $p = 0,019$ ). Повышался в первой группе уровень LYM CD71+ с рецепторами к трансферрину ( $p = 0,03$ ).

При этом абсолютное значение моноцитов (MON) CD16+, abs, являющихся показателем активности хронического неспецифического воспалительного процесса [20, 21], было выше контрольных значений ( $p = 0,014$ ). Анализ субфракций MON при сравнении их с контролем также выявил некоторые изменения. В первой группе фракция активированных MON CD4+CD38+ была достоверно ниже контрольных цифр ( $p = 0,017$ ). Отмечалось также снижение в обеих подгруппах MON CD4-CD38+ ( $p = 0,03$ ), что указывает на напряженность острого иммунного ответа. Снижалась в первой группе субфракция MON CD18+CD11C+ с экспрессией поверхностных молекул адгезии ( $p = 0,03$ ).

Таким образом, в первой группе по данным иммунофенотипирования наблюдалась депрессия острофазового ответа с повышением уровня хронического неспецифического воспалительного процесса. Вероятно, низкий уровень NO<sub>x</sub> в первой группе при поступлении был обусловлен тахифилаксией на фоне хронического воспаления [14].

Во второй группе отличий от контроля было существенно меньше. Также как и в первой группе имело место снижение процента LYM CD 16+ ( $p = 0,05$ ) и моноцитарных субфракций острого воспалительного ответа MON CD4+CD38+ ( $p = 0,03$ ) и MON CD4-CD38+ ( $p = 0,03$ ), MON CD11C+ ( $p = 0,051$ ).

Между собой группы различались по представленности субпопуляций Т-LYM с маркером CD45RA+: более низким в первой группе уровнем наивных LYM CD3+CD4+CD45RA+–TH, % ( $p = 0,018$ ) и LYM CD4+RA+–CD3+, % ( $p = 0,003$ ) и более высоким — зрелых LYM CD3+CD4+CD45RO+–TH, % ( $p = 0,03$ ) и LYM CD4+RO+–CD3+, % ( $p = 0,03$ ). В первой группе также был выше уровень MON с маркером CD11C+ ( $p = 0,045$ ).

Таким образом, по анализу лейкоцитарных субпопуляций первая группа выглядела более неблагоприятной за счет большей выраженности хронического воспалительного процесса, нарушения формирования специфического иммунного ответа из-за нарушения формирования иммунной памяти.

Учитывая особую значимости прогностического значения выявленных параметров, мы проведен анализ повторных ишемических событий в подгруппах ПНМК (таблица 4).

Таблица 4 — Показатели катамнестического наблюдения пациентов с ПНМК, образованных по данным NO<sub>x1</sub> групп

Клиническая форма	1-я подгруппа (n = 44/42)		2-я подгруппа (n = 17/15)	
	3 мес.	1 год	3 мес.	1 год
Без повтора	79,5 % (35 чел.)	73,8 % (31 чел.)	82,4 % (14 чел.)	73,3 % (11 чел.)
ПНМК	4,5 % (2 чел.)	4,8 % (2 чел.)	—	—
ИМ	9,1 % (4 чел.)	12 % (5 чел.)	17,6 % (3 чел.)	26,7 % (4 чел.)
Инфаркт миокарда	2,3 % (1 чел.)	2,4 % (1 чел.)	—	—
Смерть	4,5 % (2 чел.)	4,8 % (2 чел.)	—	—

Как следует из приведенных данных таблицы 4, пациенты с благоприятным ишемическим прогнозом распределились в обеих группах равномерно. Осложненный катамнез в первой группе был представлен более широким спектром патологий, включавших как повторные ПНМК (4,5–4,8 %), так и смерть по причине сердечно-сосудистой патологии (4,5–4,8 %). Вторая группа имела более значимый прогноз в отношении возникновения ИМ.

### Заключение

Таким образом, разделение группы ПНМК по концентрации NO<sub>x1</sub>, определяемой непосредственно после возникновения транзиторной ишемии головного мозга, позволило выявить разнородность изучаемой когорты по характеру воспалительных изменений. Учитывая, что в обеих изучаемых группах острое нарушение мозгового кровообращения не получило статуса ИМ, представляются важными различия в физиологиче-

ских параметрах, определяющих различные сано-генетические механизмы.

Группа пациентов с низкой концентрацией  $\text{NO}_{\text{X}}$  при поступлении характеризовалась проявлениями хронического неспецифического воспалительного процесса и нарушением острофазового ответа. Спустя 10–12 суток отмечалось снижение имеющегося резерва.

Во второй группе с показателями  $\text{NO}_{\text{X}}$ , изначально превышающими порог 33 мкМ/л, воспалительные изменения характеризовались большей выраженностью острофазового ответа без признаков хронического неспецифического воспаления, что сопровождалось более высоким уровнем ОХ сыворотки крови. Образованные группы не имели четкого различия в прогностическом аспекте в связи с разнонаправленной динамикой параметров СВ и концентрацией  $\text{NO}_{\text{X}}$  за 10–12-дневный период [10], следующий за ПНМК.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Stroke incidence and mortality trends in US communities, 1987 to 2011 // S. Koton [et al.] // JAMA. — 2014. — Vol. 312, № 3. — P. 259–268.
2. Interventions for improving modifiable risk factor control in the secondary prevention of stroke / K. E. Lager [et al.] // The Cochrane Database of Systematic Rev. — 2014. — Vol. 2, № 5. — Doi: 10.1002/14651858.CD009103.pub2.
3. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / E. C. Jauch [et al.] // Stroke. — 2013. — Vol. 44, Is. 3. — P. 870–947.
4. Guidelines for the early management of stroke patients / C. Edward [et al.] // Stroke. — 2013. — Vol. 44, № 3. — P. 870–947.
5. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / W. N. Kernan [et al.] // Stroke. — 2014. — Vol. 45, Is. 7. — P. 2160–2236.
6. Definition and evaluation of transient ischemic attack / J. D. Easton [et al.] // Stroke. — 2009. — Vol. 40, Is. 6. — P. 2276–2293.
7. Нейропсихологический статус у пациентов с преходящими нарушениями мозгового кровообращения / Н. В. Галиновская [и др.] // Пробл. здоровья и экологии. — 2016. — № 2 (48). — С. 38–42.
8. Nitric oxide and interleukin-6 production in patients with transient cerebral microcirculatory disturbances / M. N. Starodubtseva [et al.] // Amer. J. Clinical Neurology and Neurosurgery. — 2015. — Vol. 1, № 2. — P. 86–91.
9. Parameters of systemic inflammatory response in patients with passing infringements of brain blood circulation / N. V. Halinouskaya [et al.] // British J. Med. and Med. Research. — 2016. — Vol. 15, № 1. — P. 1–10.
10. Прогноз инфаркта мозга у пациентов с преходящими нарушениями мозгового кровообращения в течение года по результатам измерения концентрации нитрит/нитрат ионов в плазме крови / Н. В. Галиновская [и др.] // Медицина. — 2016. — № 4 (95). — С. 16–21.
11. Лихачёв, С. А. Транзиторные ишемические атаки: этиология, патогенез, классификация, клиника, диагностика / С. А. Лихачёв, А. В. Астапенко, Н. Н. Белявский // Мед. новости. — 2003. — № 10. — С. 31–37.
12. Дривотинов, Б. В. Транзиторные ишемические атаки в свете современных нейрорепаративных представлений / Б. В. Дривотинов, Е. Н. Апанель, А. С. Мاستыкин // Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии: [сб. науч. ст.] / Белорус. о-во физиологов, Ин-т физиологии НАН Беларуси; науч. ред.: В. Н. Гуринов, В. Н. Калюнов, Д. М. Попутников. — Минск, 2007. — С. 305.
13. A simple score (ABCD) to identify individuals at high early risk of stroke after transient ischemic attack / P. M. Rothwell [et al.] // Lancet. — 2005. — Vol. 366, № 9479. — P. 29–36.
14. Стародубцева, М. Н. Двойственная роль пероксинитрита в организме / М. Н. Стародубцева // Пробл. здоровья и экологии. — 2004. — № 1. — С. 35–41.
15. Галиновская, Н. В. Параметры антиоксидантного статуса у пациентов с различными формами острых нарушений мозгового кровообращения / Н. В. Галиновская, В. В. Данильченко, Е. Г. Курбан // Новые аспекты в лечении и реабилитации ветеранов и лиц пожилого возраста (Гомель, 26 авг. 2016 г.): материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 75-летию образования учреждения «Гомельский областной клинический госпиталь ИОВ»; под общ. ред. О. А. Иванцов. — Гомель, 2016. — С. 21–24.
16. Метаболические нарушения у больных дисциркуляторной энцефалопатией при лечении мексидолом / Н. И. Нечипуренко [и др.] // Вестник фонда фундаментальных исследований. — 2009. — № 3(49). — С. 42–49.
17. Метод оценки риска инфаркта мозга / М. Н. Стародубцева [и др.] — 2015. — Гомель. — 10 с. № 153 от 11.12.2015.
18. Сирота, Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // Вопр. мед. химии. — 1998. — Т. 45, № 3. — С. 263–272.
19. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.
20. Состояние иммунной системы у больных с острым инсультом / Н. М. Ребенко [и др.] // Журн. невропатологии и психиатрии. Инсулт. — 2005. — Вып. 14. — С. 46–49.
21. Особенности иммунологического статуса у пациентов с разными формами преходящих нарушений мозгового кровообращения / Н. В. Галиновская [и др.] // Пробл. здоровья и экологии. — 2016. — № 2 (39). — С. 27–33.

Поступила 30.10.2017

УДК 591.11+53.086]:616-092-07

## АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ КЛЕТОК КАК МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА И ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

М. Н. Стародубцева

Гомельский государственный медицинский университет,  
Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

Применение атомно-силовой микроскопии (АСМ) для исследования микро- и наномасштабных участков поверхности клеток позволяет ввести новые клеточные параметры, получить качественно новые представления о причинах и механизмах изменения свойств клеток. Целью работы являлась оценка на примере клеток крови состояния и перспектив АСМ для изучения и разработки новых методов диагностики заболеваний на основе анализа специфики режимов работы АСМ и новых АСМ-данных о свойствах поверхности клеток.

**Ключевые слова:** атомно-силовая микроскопия, цитоскелет, модуль Юнга, механические свойства клеток, фрактальная размерность, эритроциты, лейкоциты, раковые клетки, патология.